

الله الرحمن الرحيم





دانشکده مهندسی مکانیک و مکاترونیک

پایان نامه کارشناسی ارشد مهندسی مکاترونیک

تحلیل غیر خطی محدودیت انتشار بر روی پاسخ و حساسیت سنسورهای آمپرومتریک

نگارش:

مهناز قاسمی

استاد راهنما:

دکتر سعیده فردوسی

اساتید مشاور

دکتر مصطفی نظری

دکتر سید مرتضی نقیب

دکتر محسن نظری

دی ۱۳۹۸

أ

ماحصل آموختہ ایم راتقدیم می کنم

به عاشقانه ترین نگاه زندگی ام، چشمان پر عشق مادرم

و به استوارترین تکیه گاهم، دستان پر مهر پدرم

با سپاس از اساتید که اقدام کردند و تمندانه برای آموزش تلاش نمودند

و سپاس از همه عزیزانی که در این پژوهش یاریمان نمودند

## تعهد نامه

اینجانب **مهناز قاسمی** دانشجوی دوره کارشناسی ارشد رشته **مهندسی مکاترونیک** دانشکده مهندسی مکانیک دانشگاه صنعتی شاهرود نویسنده پایان نامه **تحلیل غیرخطی محدودیت انتشار بر روی پاسخ و حساسیت سنسورهای آمپرومتریک** تحت راهنمایی خانم دکتر سعیده فردوسی متعهد می شوم.

- تحقیقات در این پایان نامه توسط اینجانب انجام شده است و از صحت و اصالت برخوردار است .
- در استفاده از نتایج پژوهشهای محققان دیگر به مرجع مورد استفاده استناد شده است .
- مطالب مندرج در پایان نامه تاکنون توسط خود یا فرد دیگری برای دریافت هیچ نوع مدرک یا امتیازی در هیچ جا ارائه نشده است .
- کلیه حقوق معنوی این اثر متعلق به دانشگاه صنعتی شاهرود می باشد و مقالات مستخرج با نام « دانشگاه صنعتی شاهرود » و یا « Shahrood University of Technology » به چاپ خواهد رسید .
- حقوق معنوی تمام افرادی که در به دست آمدن نتایج اصلی پایان نامه تأثیرگذار بوده اند در مقالات مستخرج از پایان نامه رعایت می گردد.
- در کلیه مراحل انجام این پایان نامه ، در مواردی که از موجود زنده ( یا بافتهای آنها ) استفاده شده است ضوابط و اصول اخلاقی رعایت شده است .
- در کلیه مراحل انجام این پایان نامه، در مواردی که به حوزه اطلاعات شخصی افراد دسترسی یافته یا استفاده شده است اصل رازداری، ضوابط و اصول اخلاق انسانی رعایت شده است .

## تاریخ

امضای دانشجو

### مالکیت نتایج و حق نشر

کلیه حقوق معنوی این اثر و محصولات آن (مقالات مستخرج ، کتاب ، برنامه های رایانه ای ، نرم افزار ها و تجهیزات ساخته شده است ) متعلق به دانشگاه صنعتی شاهرود می باشد . این مطلب باید به نحو مقتضی در تولیدات علمی مربوطه ذکر شود . استفاده از اطلاعات و نتایج موجود در پایان نامه بدون ذکر مرجع مجاز نمی باشد.

## چکیده

سرطان پستان<sup>۱</sup> دومین علت مرگ و میر ناشی از سرطان در زنان، پس از سرطان ریه است و پس از سرطان غیرملانومی پوست، شایع‌ترین سرطان زنان می‌باشد. براساس آمار سازمان بهداشت جهانی<sup>۲</sup> (WHO)، هر ساله بیش از ۲/۱ میلیون بیمار مبتلا به سرطان پستان تشخیص داده می‌شود و بیش از ۵۰۰ هزار نفر در اثر بیماری فوت می‌کنند. کشور ایران نیز از این امر مستثنی نیست. چنان‌که این سرطان عامل ۴/۲۱ درصد از کل بدخیمی‌ها و شایع‌ترین سرطان در زنان ایرانی است. به این صورت که از هر ۱۰ هزار نفر زن ایرانی ۲۴ نفر به این بیماری مبتلا می‌شوند. با توجه به شرایط موجود، زنان ایرانی یک دهه زودتر به این بیماری مبتلا می‌شوند. با توجه به این مسئله، تشخیص و درمان بیماری قابل اهمیت است.

یکی از مهم‌ترین مشکلات در درمان سرطان، بحث تشخیص به موقع آن است. روش‌های مختلفی برای تشخیص وجود دارد؛ زیست‌حسگرها بهترین روش برای اندازه‌گیری پارامترهای مختلف بیولوژیکی در بدن انسان می‌باشند. در این پژوهش دو سیستم مورد بررسی قرار می‌گیرد، در سیستم اول بیماری را تشخیص می‌دهیم و با استفاده از ایمنی درمانی به اصلاح دینامیک سیستم و با استفاده از شیمی‌درمانی به هدایت مسیر حرکت سیستم به سمت نقطه تعادل مورد نظر می‌پردازیم. از آنجاییکه شرایط سنی بیمار در ارائه روش درمانی تاثیرگذار است، درمان بر روی سه بیمار ۸، ۲۲ و ۶۰ ساله انجام شد. طول دوره درمان به دلیل قوی‌تر فرض کردن سیستم ایمنی بدن در بیمار کودک و کهنسال از بیمار جوان کوتاه‌تر است که نشان دهنده اهمیت ایمنی‌درمانی در کنار شیمی‌درمانی است. در بخش بعدی ارتباط میزان گلوکز خون و تاثیر آن در درمان سرطان مورد بحث قرار گرفته است. به این شکل که، مدل‌سازی زیست‌حسگرها با استفاده از حل تحلیلی و عددی معادلات دیفرانسیل جزئی<sup>۳</sup> انجام شده است. منطق اصلی کار این پژوهش، ارزیابی پارامترهای بحرانی و شرایطی است که پاسخ زیست‌حسگر را تعیین می‌نماید. از این رو راه‌حل روش تفاضل محدود<sup>۴</sup> برای حل دیجیتال معادلات انتشار خطی که مبنای مدل‌سازی زیست‌حسگرها هستند اختصاص یافته است. سپس نتایج حاصل از ساخت و داده‌های آزمایشگاهی با روش مدل‌سازی مقایسه شده است. و توانستیم با تحلیل پارامترهای موثر در خروجی حسگر، عملکرد حسگر را تا حد امکان بهینه کنیم.

## کلیدواژه:

سرطان پستان، زیست‌حسگر، گلوکز خون، معادلات دیفرانسیل جزئی، روش تفاضل محدود، معادلات

انتشار

<sup>۱</sup> Breast Cancer

<sup>۲</sup> World Health Organization

<sup>۳</sup> Partial Differential Equations

<sup>۴</sup> Finite Difference

# لیست مقالات مستخرج از پایان نامه

۱- کنترل فازی-بهینه سرطان با در نظر گرفتن پدیده انشعاب و شرایط سنی بیمار با استفاده از درمان ترکیبی ایمنی-درمانی-شیمی درمانی

-۲

-۳



# فهرست مطالب

## فصل اول: مقدمه و پیشینه موضوع

۱-۱ مقدمه.....	۲
۲-۱ سابقه موضوع.....	۳
۳-۱ ضرورت انجام تحقیق.....	۵
۴-۱ روش تحقیق.....	۵

## فصل دوم: حسگرهای زیستی

۱-۲ حسگر.....	۷
۱-۱-۲ انواع حسگرها.....	۹
۲-۱-۲ انواع گیرنده‌های زیستی.....	۱۱
۳-۱-۲ ویژگی‌های حسگرها.....	۱۲
۲-۲ مقدمه‌ای بر الکتروشیمی.....	۱۳
۱-۲-۲ زیست حسگرهای الکتروشیمیایی.....	۱۴
۱-۱-۲-۲ ویژگی‌های زیست حسگرهای الکتروشیمیایی.....	۱۴
۲-۱-۲-۲ معایب زیست حسگرهای الکتروشیمیایی.....	۱۴
۳-۲ سل‌های الکتروشیمیایی.....	۱۴
۴-۲ انواع الکتروود.....	۱۴
۱-۴-۲ الکتروود کار.....	۱۵
۱-۱-۴-۲ ویژگی‌های الکتروودهای کار.....	۱۵
۲-۴-۲ الکتروود مقابل.....	۱۵
۳-۴-۲ الکتروود مرجع.....	۱۵
۵-۲ انواع روش‌های اندازه‌گیری الکتروشیمیایی.....	۱۵
۲-۱-۵ روش آمپرومتری.....	۱۶
۶-۲ انواع زیست حسگرهای الکتروشیمیایی.....	۱۶
۱-۶-۲ انواع حسگرهای زیستی بر حسب نوع گیرنده زیستی.....	۱۷
۱-۱-۶-۲ حسگرهای آنزیمی.....	۱۸
۲-۱-۶-۲ عوامل موثر در عملکرد آنزیم‌ها.....	۱۸
۳-۱-۶-۲ حسگرهای آنزیمی گلوکز.....	۱۹
۲-۱-۳-۱-۶ ساختار و عملکرد آنزیم گلوکز.....	۱۹
۴-۱-۶-۲ روش‌های اتصال آنزیم به سطح.....	۲۰
۵-۱-۶-۲ انواع روش‌های تثبیت آنزیم.....	۲۰

۲۰	..... پیوند کوالان سی با سطح..... ۱-۵-۱-۶-۲
۲۰	..... ویژگی‌های پیوند کوالانسی..... ۲-۱-۱-۵-۱-۶
۲۱	..... نانومواد ..... ۷-۲
۲۱	..... انواع نانومواد..... ۱-۷-۲
۲۱	..... خواص نانومواد..... ۲-۷-۲
۲۱	..... کاربردهای نانومواد..... ۳-۷-۲
۲۲	..... نقش نانومواد در بهبود عملکرد حسگری..... ۴-۷-۲
۲۲	..... مواد نانوساختار برای زیست حسگری..... ۵-۷-۲
۲۲	..... روش‌های عامل‌دار کردن نانولوله‌ها..... ۸-۲
۲۲	..... پلیمرهای هادی..... ۱-۸-۲
۲۳	..... کاربرد پلیمرهای هادی..... ۲-۸-۲
۲۳	..... کاربرد و نقش پلیمرهای هادی در طراحی و ساخت حسگرهای زیستی..... ۳-۸-۲
۲۳	..... آمونیوم پرسولفات..... ۹-۲
۲۳	..... پلی آنیلین..... ۱۰-۲
۲۴	..... نانوذره نقره..... ۱۱-۲
۲۴	..... اسید کلریدریک..... ۱۲-۲
۲۳	..... تتراهیدروفوران..... ۱۳-۲
۲۵	..... اهمیت آشکارسازی..... ۱۴-۲
۲۵	..... روش‌های آشکارسازی زیست‌حسگرها..... ۱-۱۴-۲
۲۵	..... روش بدون برچسب..... ۱-۱-۱۴-۲
۲۶	..... تجاری شدن حسگرهای زیستی..... ۱۵-۲
۲۶	..... شرایط لازم جهت تجاری کردن حسگرهای زیستی..... ۱-۱۵-۲
۲۶	..... زمینه‌های تجاری‌سازی..... ۲-۱۵-۲
۲۶	..... انواع حسگرهای زیستی تجاری..... ۳-۱۵-۲

## فصل سوم: مدل‌سازی ریاضی تشخیص سرطان

۲۸	..... اهمیت تشخیص به موقع..... ۱-۳
۲۸	..... روش کنترلی تشخیص و درمان..... ۲-۳
۲۹	..... نظریه کنترل بهینه SDRE..... ۱-۲-۳
۳۰	..... مدل ریاضی سرطان..... ۳-۳
۳۱	..... حالت بدون درمان..... ۴-۳
۳۱	..... تعیین نقاط تعادل و بررسی پایداری..... ۵-۳
۳۲	..... بررسی انشعاب در سیستم..... ۶-۳
۳۷	..... کنترل بهینه سرطان با در نظر گرفتن تغییر در دینامیک سیستم..... ۷-۳
۴۰	..... نتایج شبیه‌سازی..... ۸-۳
۴۰	..... بیمار جوان..... ۱-۸-۳

- ۴۱.....بیمار کهنسال ۳-۲-۸
- ۴۲.....بیمار کودک ۳-۸-۳
- ۴۳.....۹-۳ کنترل مدار بسته و انتخاب حسگر مناسب

### فصل چهارم: مدل سازی ریاضی درمان

- ۴۶.....۱-۴ دیدگاه چندآنزیمی
- ۴۷.....۲-۴ مدل دوبخشی
- ۴۷.....۳-۴ ساختار اصلی زیست حسگر
- ۴۷.....۴-۴ مدل ریاضی زیست حسگر آمپرومتری
- ۴۸.....۴-۱-۴ شرایط مرزی و اولیه
- ۴۹.....۵-۴ خصوصیات واکنش زیست حسگر
- ۴۹.....۴-۵-۱ جریان زیست حسگر
- ۴۹.....۴-۵-۲ حساسیت زیست حسگر
- ۴۹.....۴-۵-۳ ثابت میکائیلز منتن
- ۵۰.....۴-۵-۴ زمان واکنش
- ۵۰.....۶-۴ بی بُعد کردن مدل
- ۵۲.....۷-۴ مدل حل
- ۵۵.....۸-۴ بحث و نتایج
- ۵۹.....۴-۱-۸ تاثیر جریان حالت پایدار
- ۵۹.....۴-۸-۲ اثر حساسیت
- ۶۰.....۴-۸-۳ اثر پایداری پاسخ
- ۶۱.....۴-۸-۴ اثر ثابت میکائیلز منتن
- ۶۲.....۴-۸-۵ اثر محدودیت انتشار در پاسخ و حساسیت زیست حسگر آمپرومتری
- ۶۲.....۴-۸-۶ اثر زمان پاسخ

### فصل پنجم: ساخت و نتایج آزمایشگاهی

- ۶۴.....۱-۵ ارتباط دیابت و سرطان
- ۶۴.....۲-۵ مواد شیمیایی مورد استفاده
- ۶۵.....۳-۵ تجهیزات آزمایشگاهی و دستگاه های مورد استفاده
- ۶۵.....۴-۵ طراحی مدار چاپی شامل الکترونها
- ۶۶.....۵-۵ مدار تقویت کننده
- ۶۶.....۶-۵ پلی آنیلین
- ۶۶.....۵-۶-۱ تهیه پلی آنیلین
- ۶۷.....۵-۶-۲ تهیه نانوکامپوزیت پلی آنیلین

۶۸.....	۷-۵ تثبیت آنزیم گلوکز اکسیداز.....
۶۸.....	۱-۷-۵ تهیه محلول‌های استاندارد گلوکز برای بررسی عملکرد زیست‌حسگر.....
۶۹.....	۲-۷-۵ اندازه‌گیری گلوکز.....
۶۹.....	۸-۵ بررسی عملکرد زیست‌حسگر.....
۷۰.....	۹-۵ قند خون افراد سالم.....
۷۰.....	۱۰-۵ نتایج آزمایشگاهی.....
۷۵.....	۱۱-۵ اعتبارسنجی نمودار تجربی جریان.....
۷۶.....	۱۲-۵ نتیجه‌گیری.....

### فصل ششم: نتایج و پیشنهادات

۷۶.....	۱-۶ جمع‌بندی.....
۷۸.....	۲-۶ پیشنهادات.....

### مراجع

۷۹.....	۱-۷ مراجع.....
---------	----------------

# فهرست جداول

جدول ۱-۳ - مقادیر نامی پارامترها .....	۳۲
جدول ۲-۳ - قوانین فازی.....	۳۸
جدول ۱-۴ مقادیر $\beta_{max}$ به ازای $\sigma$ مختلف.....	۵۸
جدول ۱-۵ مواد شیمیایی مورد استفاده در ساخت زیست‌حسگر.....	۶۵
جدول ۲-۵ پارامترهای به‌دست آمده از آزمایش.....	۷۱

# فهرست شکل ها و نمودارها

- شکل ۱-۲- ساختار کلی حسگر..... ۸
- شکل ۲-۲- انواع حسگرها..... ۹
- شکل ۳-۲- شمای کلی یک زیست حسگر..... ۱۱
- شکل ۴-۲- انواع گیرنده های زیستی..... ۱۲
- شکل ۵-۲- ساختار کلی الکترودهای کار..... ۱۴
- شکل ۶-۲- نمودار جریان \_ زمان، روش آمپرومتری..... ۱۶
- شکل ۷-۲- اجزای تشکیل دهنده زیست حسگرهای الکتروشیمیایی..... ۱۷
- شکل ۸-۲- انواع حسگرهای زیستی بر حسب نوع گیرنده زیستی..... ۱۷
- شکل ۹-۲- سنتز آنزیم..... ۱۸
- شکل ۱۰-۲- ساختار کلی آنزیم گلوکز..... ۱۹
- شکل ۱-۳- نمودار بلوکی کنترلر..... ۲۹
- شکل ۲-۳- صفحه فاز سیستم به همراه نقاط تعادل سیستم به ازای پارامترهای داده شده در جدول ۱-۳..... ۳۲
- شکل ۳-۳- نقاط تعادل سرطانی سیستم به ازای پارامترهای داده شده در جدول ۱-۳، برحسب  $\sigma$  (نمودار انشعاب بر حسب پارامتر  $\sigma$ )..... ۳۳
- شکل ۴-۳- صفحه فاز سیستم به ازای پارامترهای داده شده در جدول ۱-۳، و  $\sigma = 0.4$ ..... ۳۳
- شکل ۵-۳- صفحه فاز سیستم به ازای پارامترهای داده شده در جدول ۱-۳، و  $\sigma = 0.7$ ..... ۳۴
- شکل ۶-۳- نقاط تعادل سرطانی سیستم به ازای پارامترهای داده شده در جدول ۱-۳، برحسب  $\delta$  (نمودار انشعاب بر حسب پارامتر  $\delta$ )..... ۳۴
- شکل ۷-۳- صفحه فاز سیستم به ازای پارامترهای داده شده در جدول ۱-۳، و  $\delta = 0.1, 0.8$ ..... ۳۵
- شکل ۸-۳- نقاط تعادل سرطانی سیستم به ازای پارامترهای داده شده در جدول ۱-۳، برحسب  $\mu$  (نمودار انشعاب بر حسب پارامتر  $\mu$ )..... ۳۶
- شکل ۹-۳- صفحه فاز سیستم به ازای پارامترهای داده شده در جدول ۱-۳، و  $\mu = 0.001, 0.015$ ..... ۳۹
- شکل ۱۰-۳- توابع عضویت مربوط به سن بیمار و درایه های ماتریس وزنی Q و حداکثر دوز دارو..... ۴۱
- شکل ۱۱-۳- مسیر حرکت سیستم و رفتار زمانی سیستم بدون اصلاح دینامیک در برابر درمان غیر ترکیبی شیمی-درمانی..... ۴۱
- شکل ۱۲-۳- مسیر حرکت سیستم و رفتار زمانی سیستم در برابر درمان ترکیبی شیمی درمانی-ایمنی درمانی برای یک جوان ۲۲ ساله..... ۴۱
- شکل ۱۳-۳- مسیر حرکت سیستم و رفتار زمانی سیستم در برابر درمان ترکیبی شیمی درمانی-ایمنی درمانی برای یک کهنسال ۶۰ ساله..... ۴۲
- شکل ۱۴-۳- مسیر حرکت سیستم و رفتار زمانی سیستم در برابر درمان ترکیبی شیمی درمانی-ایمنی درمانی برای یک کودک ۸ ساله..... ۴۳
- شکل ۱-۴- نمایش شماتیک بیوسنسور آمپرومتریک..... ۴۷
- شکل ۲-۴- الف- نمایش خروجی جریان برحسب زمان در  $v_{max} = 0.6$  و  $s_0 = 20$ ..... ۵۳

- شکل ۴-۲-ب- نمایش خروجی جریان برحسب زمان در  $v_{max} = 60$  و  $s_0 = 20$  ..... ۵۳
- شکل ۴-۳- نمودار خروجی جریان حالت پایدار زیست‌حسگر در  $s_0 = 0.01$  ..... ۵۷
- شکل ۴-۴- نمودار خروجی جریان حالت پایدار زیست‌حسگر در شش مقدار  $\sigma$ ، بقیه مقادیر مانند شکل (۴-۳) است. ..... ۵۸
- شکل ۴-۵- نمودار خروجی جریان حالت پایدار زیست‌حسگر در  $s_0 = 5$  ..... ۵۹
- شکل ۴-۶- نمودار خروجی حساسیت بدون بعد زیست‌حسگر در  $s_0 = 5$  ..... ۶۰
- شکل ۴-۷- نمودار خروجی ثابت میکائلیس منتن زیست‌حسگر ..... ۶۲
- شکل ۵-۱- زیرلایه مورد استفاده در ساخت زیست‌حسگر ..... ۶۶
- شکل ۵-۲- پلی‌آنیلین تولید شده در آزمایشگاه ..... ۶۷
- شکل ۵-۳- نانوکامپوزیت پلی‌آنیلین تولید شده در آزمایشگاه ..... ۶۷
- شکل ۵-۴- دستگاه اتوانالیزور RA1000 ..... ۶۹
- شکل ۵-۵- نمودار خروجی جریان برحسب غلظت ..... ۷۰
- شکل ۵-۶- نمودار جریان برحسب زمان برای بیمار اول، مقادیر پارامترها از جدول ۵-۲ ..... ۷۲
- شکل ۵-۷- نمودار جریان برحسب زمان برای بیمار دوم، مقادیر پارامترها از جدول ۵-۲ ..... ۷۲
- شکل ۵-۸- نمودار جریان برحسب زمان برای بیمار پنجم، مقادیر پارامترها از جدول ۵-۲ ..... ۷۳
- شکل ۵-۹- نمودار جریان برحسب زمان برای بیمار هفتم، مقادیر پارامترها از جدول ۵-۲ ..... ۷۳
- شکل ۵-۱۰- نمودار جریان برحسب زمان برای بیمار هشتم، مقادیر پارامترها از جدول ۵-۲ ..... ۷۴
- شکل ۵-۱۱- نمودار جریان برحسب زمان برای بیمار نهم، مقادیر پارامترها از جدول ۵-۲ ..... ۷۴
- شکل ۵-۱۲- نمودار جریان برحسب زمان برای بیمار دهم، مقادیر پارامترها از جدول ۵-۲ ..... ۷۵
- شکل ۵-۱۳- نمودار تجربی جریان برحسب زمان ..... ۷۵
- شکل ۵-۱۴- نمودار جریان برحسب زمان برای بیمار سوم، مقادیر پارامترها از جدول ۵-۲ ..... ۷۶





# فصل اول: مقدمه و پیشینه موضوع

## ۱-۱ مقدمه

دنیای حسگرها<sup>۱</sup> بسیار گسترده و وسیع می‌باشد. علوم مختلف مهندسی، شیمی و فیزیک، در زمینه‌های مربوط به مطالعه رفتاری و توسعه‌ی حسگرها فعالیت می‌نمایند [۱]. امروزه طراحی و ساخت حسگرها با حساسیت، صحت و دقت مناسب برای اندازه‌گیری و دنبال کردن آنالیت<sup>۲</sup> (ماده مورد تجزیه) در محیط‌های صنعتی تا بیولوژیکی، موضوع تحقیقات بسیاری از دانشمندان قرار گرفته است. استفاده از حسگرها به خاطر نحوه عملکرد ساده، اندازه‌گیری سریع و دور از تاثیر عوامل مزاحم موجود در نمونه مورد اندازه‌گیری، عدم تخریب نمونه حین آنالیز<sup>۳</sup> (تجزیه و تحلیل) و فراهم ساختن امکان ردیابی گونه در محیط واکنش، دارای اهمیت می‌باشد. یک حسگر شیمیایی<sup>۴</sup> وسیله‌ای است که اطلاعات پیوسته‌ای را در مورد خواص شیمیایی محیط اطرافش در اختیار می‌گذارد. حسگرهای الکتریکی<sup>۵</sup> یا الکتروشیمیایی<sup>۶</sup> زیر شاخه مهمی از حسگرهای شیمیایی را به وجود می‌آورند که در آن‌ها الکترودی<sup>۷</sup> به عنوان عنصر<sup>۸</sup> انتقال‌دهنده مورد استفاده قرار می‌گیرد. این ابزارها طوری طراحی می‌شوند که می‌توانند به ماده در یکی از فازهای جامد، مایع و گاز پاسخ دهند [۲]. عنصر انتقال‌دهنده، یک لایه شناساگر<sup>۹</sup> شیمیایی یا زیستی می‌باشد. این لایه با ترکیب آزمایشی مورد نظر وارد واکنش می‌شود و تغییرات شیمیایی به وجود آمده از این واکنش را توسط عنصر انتقال‌دهنده به سیگنال الکتریکی تبدیل می‌کند [۳]. حسگرهای آمپرومتری<sup>۱۰</sup> نوعی از حسگرهای الکتروشیمیایی هستند که برای تشخیص یک ماده شیمیایی استفاده می‌شوند که ترکیبی از مولکول<sup>۱۱</sup> بیولوژیکی با یک آشکارساز<sup>۱۲</sup> فیزیکی و شیمیایی است [۴]. زیست‌حسگرهای<sup>۱۳</sup> آمپرومتری جریان خروجی آنودی<sup>۱۴</sup> یا کاتدی<sup>۱۵</sup> تولید می‌کنند که در اکثر موارد با غلظت سوبسترا<sup>۱۶</sup> متناسب است.

---

۱ Sensors

۲ Analytics

۳ Analyze

۴ Chemical Sensor

۵ Electrical Sensors

۶ Electrochemical Sensors

۷ Electrode

۸ Element

۹ Identifier Layer

۱۰ Amperometric Sensors

۱۱ Molecule

۱۲ Detector

۱۳ Biosensors

۱۴ Anode

۱۵ Cathode

۱۶ Substrate

علی‌رغم مزایای متعددی که برای زیست‌حسگرها وجود دارد، محدوده پایداری هر حسگر، قیمت بسیار بالای آنزیم‌ها، محدوده خطی کم منحنی کالیبراسیون<sup>۱</sup> و جریان بالا از محدودیت‌های اصلی عدم استفاده از زیست‌حسگرها می‌باشد. برای رفع این مشکل‌ها استفاده از مدل‌سازی<sup>۲</sup> ریاضی زیست‌حسگرهای الکتروشیمیایی مبتنی بر آنزیم بسیار اثرگذار می‌باشد، لذا پیش‌بینی هر دو پارامتر هندسی و کاتالیزوری<sup>۳</sup> اهمیت زیادی برای حل این مشکل دارد [۵]. در مدل‌سازی زیست‌حسگرها با غشاهای انتخابی، مدل چند لایه برای دستیابی به دقت کافی مورد نیاز است. هدف از این کار، بررسی دقیق وابستگی محدودیت‌های انتشار داخلی و خارجی در پاسخ و حساسیت حسگرهای آمپرومتری به وسیله مدل دوبعدی است که براساس معادلات واکنش-انتشار که حاوی یک عبارت غیرخطی مرتبط با سینتیک<sup>۴</sup> میکائلیس - منتن<sup>۵</sup> است، صورت پذیرفته است [۶]. از اواخر قرن بیستم تا به حال، مدل‌های دو بخشی به عنوان یک مورد خاص از مدل‌های چند لایه در مدل‌سازی زیست‌حسگرها به‌طور گسترده‌ای مورد استفاده قرار گرفته‌اند [۷]. در مدل دوبخشی، یک زیست‌حسگر به عنوان یک لایه نسبتاً نازک از آنزیم اعمال شده بر روی سطح حسگر و یک لایه انتشار بیرونی مدل‌سازی می‌شود. به طور خاص، مشخص می‌شود که با استفاده از یک غشاء بسیار استیلینگ<sup>۶</sup> ضخیم، ثابت میکائلیس-منتن می‌تواند برای یک زیست‌حسگر گلوکز اکسید<sup>۷</sup> شده الکتروشیمیایی تا ۴۰۰ درصد افزایش یابد و پاسخ پایدار زیست‌حسگر را حفظ کند [۱].

## ۲-۱ سابقه موضوع

نخستین بار مفهوم حسگرهای زیستی، توسط دکتر لیلاند سی. کلارک در اوایل سال‌های ۱۹۶۰ برای اندازه‌گیری غلظت گلوکز، برای بیماران دیابتی<sup>۸</sup> با استفاده از آنزیم گلوکز اکسیداز<sup>۹</sup> ( $GO_x$ ) معرفی شد [۸]. امروزه نیز بیشترین کاربرد حسگرهای زیستی، در زمینه اندازه‌گیری گلوکز است اما با پیشرفت‌هایی که در زمینه میکروالکترونیک<sup>۱۰</sup> و میکرومکانیک<sup>۱۱</sup> رخ داده، تمرکز زیادی بر روی توسعه سیستم‌های مبتنی بر این دو قرار گرفته‌است. گاهی تعداد حسگرها به بیش از ۱۰۰۰ عدد بر سانتی‌متر مربع می‌رسد [۹].

- 
- ۱ Calibration
  - ۲ Modeling
  - ۳ Catalytic
  - ۴ Kinetics
  - ۵ Michaelis-Menten
  - ۶ Stirling
  - ۷ Glucose Oxide
  - ۸ Diabetic
  - ۹ Glucose Oxidase
  - ۱۰ Microelectric
  - ۱۱ Microelectronics

با توجه به دقیق بودن این گونه ابزارها، انتخاب مبدل مناسب و روش مناسب تثبیت دریافت گر زیستی در سطح جامد، موجب افزایش حساسیت و پایداری آن می‌گردد. توسعه حسگرهای زیستی از سال ۱۹۶۲ و با ساخت الکتروکد اکسیژن توسط کلارک در سین سیناتی آمریکا<sup>۱</sup>، برای اندازه‌گیری غلظت اکسیژن حل شده در خون آغاز شد<sup>[۱۰]</sup>. سپس با پوشاندن سطح الکتروکد با آنزیمی که به اکسیده شدن گلوکز کمک می‌کرد، از این حسگر برای اندازه‌گیری قند خون استفاده شد. به‌طور مشابه با پوشاندن الکتروکد توسط آنزیمی که قابلیت تبدیل اوره<sup>۲</sup> به کربنات آمونیوم<sup>۳</sup> را داشت در کنار الکتروکد از جنس آمونیوم<sup>۴</sup> حسگری ساخته شد که میزان اوره در خون یا ادرار را اندازه‌گیری می‌کرد<sup>[۱۱]</sup>. این دو حسگر زیستی از مبدل‌های متفاوتی در بخش تبدیل سیگنال استفاده می‌کردند به‌طوری‌که در نوع اول میزان قند خون با اندازه‌گیری جریان الکتریکی آمپرومتری تولید شده اندازه‌گیری می‌شد و در نوع دوم اندازه‌گیری غلظت اوره بر اساس میزان بار الکتریکی پتانسیومتری ایجاد شده در الکتروکدها صورت می‌پذیرفت. حسگرهای زیستی انواع مختلفی دارند؛ اما جدای از نوعشان، همگی دارای عملکرد یکسان هستند<sup>[۱۲]</sup>. هر حسگرزیستی شامل دو بخش اصلی است: بخش نخست، عنصر تشخیص دهنده است که برقراری پیوند شیمیایی باهدف را، توسط لیگاند<sup>۵</sup> میسر می‌سازد و دومین بخش، انتقال‌دهنده نام دارد، وظیفه این بخش تبدیل سیگنال‌های دریافت شده است. حسگرهای زیستی دارای دو نوع اساسی حسگرهای مستقیم و غیرمستقیم‌اند. در حسگرهای زیستی مستقیم، هدف بدون هیچ واسطه‌ای با لیگاند پیوند برقرار کرده و شناسایی می‌شود<sup>[۱۳]</sup>. اما در حسگر غیرمستقیم، این کار توسط یک عنصر واسطه انجام می‌گیرد. سرعت و سادگی حسگرهای مستقیم نسبت به غیرمستقیم بیشتر است، قابلیت استفاده در حالت غیرمستقیم و اندازه‌گیری تغییرات فیزیکی (خواص اپتیکی<sup>۶</sup>، الکتریکی و شیمیایی) از دیگر کاربردها و مزایای نوع مستقیم آن است<sup>[۱۴]</sup>. در دسته‌بندی دیگری، عملکرد حسگرهای زیستی به دو نوع اپتیکی و مکانیکی بخش‌بندی می‌شود، از انواع اپتیکی آن می‌توان به تشدیدکننده پلاسمون سطحی<sup>۷</sup> اشاره کرد. سامانه میکروالکترومکانیکی نیز در دسته‌بندی حسگرهای مکانیکی قرار دارد. برخی از این سامانه‌ها در ابعاد نانو نیز کاربردهای فراوانی دارند<sup>[۱۵]</sup>.

---

۱ Cincinnati America

۲ Urea

۳ Ammonium Carbonate

۴ Ammonium

۵ Ligand

۶ Optics

۷ Surface Plasmon Resonator

### ۳-۱ ضرورت انجام تحقیق

- ۱- تشخیص سلول سرطان پستان با طراحی زیست حسگر انتخابی
- ۲- تحلیل پارامترهای موثر در خروجی حسگر
- ۳- بهینه سازی عملکرد حسگر
- ۴- افزایش سرعت تشخیص و دقت پارامتر مورد اندازه گیری

### ۴-۱ روش تحقیق

محدودیت های انتشار داخلی و خارجی بر پاسخ و حساسیت حسگرهای آمپرومتری اثرگذار است، لذا در این تحقیق این وابستگی با استفاده از مدل دوقسمتی محاسبه می شود و چارچوبی برای ارزیابی و انتخاب نوع زیست حسگر پیشنهاد داده خواهد شد. زیست حسگرهای مبتنی بر آنزیم با استفاده از یک سیستم معادلات واکنش-نفوذ که حاوی یک عبارت غیرخطی مرتبط با سینتیک میکائلیس-منتن است، مدل سازی ریاضی را انجام می دهد. در طیف گسترده ای از پارامترهای مدل پاسخ زیست حسگرها، حساسیت و پایداری به صورت عددی در شرایط انتقال و حالت پایدار تحلیل می شود و بهترین نوع زیست حسگر انتخاب می شود. محاسبات انجام شده نشان دهنده اثرات غیرخطی محدودیت های انتشار داخلی و خارجی بر جریان زیست حسگرها، پاسخ زمانی، حساسیت و همچنین محدوده خطی منحنی کالیبراسیون می شود. و همچنین پدیده غیر تک تنشی<sup>۱</sup> پاسخ به زیست حسگر نیز مورد بررسی قرار می گیرد.

---

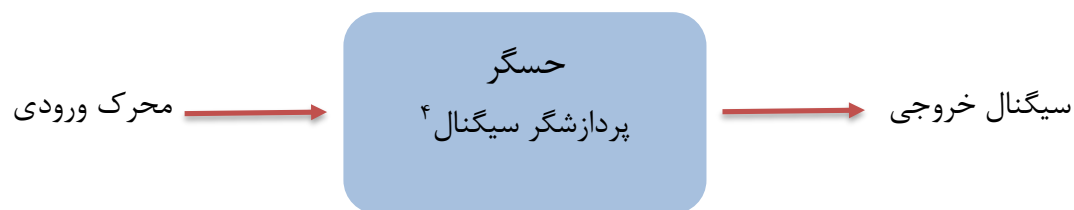
<sup>۱</sup> Non-Monotension



# فصل دوم: حکم‌های زیستی

## ۱-۲ حسگر

حسگر وسیله‌ای است که وظیفه آن تشخیص تغییرات محیط پیرامون خود (اعم از تغییرات فیزیکی و شیمیایی) و سپس تبدیل آن به یک سیگنال قابل فهم (سیگنال الکتریکی) است. نحوه ارائه داده‌ها، در حسگرهای قدیم از نوع آنالوگ<sup>۱</sup> بودند اما حسگرهای جدید دیجیتال<sup>۲</sup> هستند؛ و سیگنال الکتریکی را به صورت دیجیتال نمایش می‌دهند. حسگر در واقع یک نوع مبدل<sup>۳</sup> است که براساس نوع طراحی می‌تواند یک محرک ورودی مشخص را تشخیص بدهد و سپس با استفاده از یک جز دیگر، آن را به یک سیگنال خروجی تبدیل کند. مقدار خروجی این سیگنال، به غلظت یا کمیت موردنظر ورودی وابسته است. محرک‌های موجود در محیط می‌توانند پارامترهای مربوط به نور، فشار، رطوبت، حرارت، مواد شیمیایی، گازها، مواد زیستی و بیولوژیکی باشند که حسگر می‌تواند آن‌ها را در محیط تشخیص بدهد و اندازه‌گیری بکند. شکل (۱-۲) ساختار کلی یک حسگر را نشان می‌دهد.



شکل ۱-۲- ساختار کلی حسگر

حسگر پس از تشخیص نوع محرک ورودی، برای اینکه بتواند مقدار و یا غلظت آن را اندازه‌گیری کند احتیاج دارد سیگنالی به صورت یک سیگنال الکتریکی قابل نمایش، در دسترس داشته باشد. در طراحی حسگرها دو عامل بسیار مهم و اصلی وجود دارد، بخش اول عنصر تشخیصی<sup>۵</sup>، که وظیفه آن تشخیص گونه موجود در محیط است. بعد از تشخیص، نیاز به تبدیل این فرآیند به یک سیگنال خروجی است که مرحله دوم کار استفاده از مبدل است. پس زیست‌حسگرها شامل سه بخش هستند. بخش اول پذیرنده زیستی، بخش دوم آشکارساز و بخش سوم مبدل است.

۱ Analogue

۲ Digital

۳ Transducer

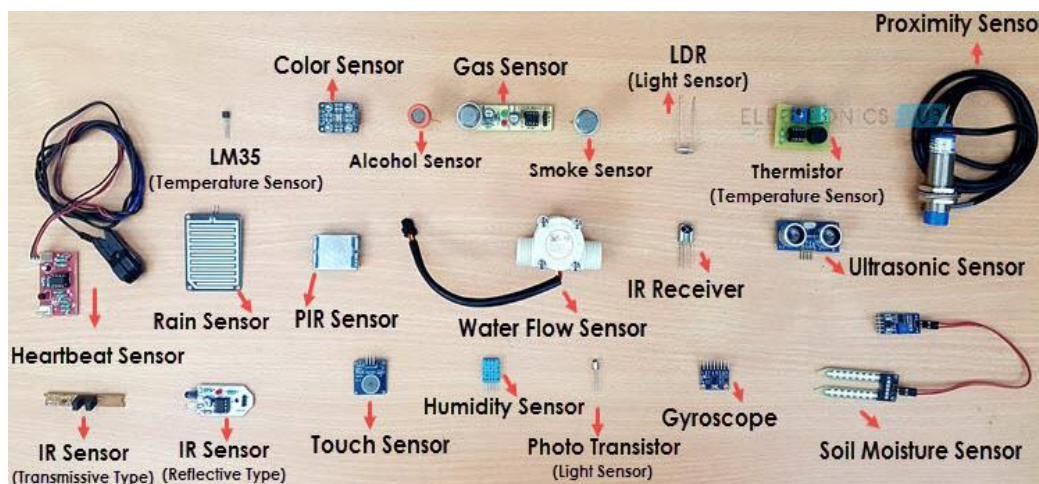
۴ Signal processor

۵ Recognition Element



## ۲-۱-۱ انواع حسگرها

حسگرها براساس نوع عنصر تشخیصی به کار رفته و روش آشکارسازی، به انواع مختلفی تقسیم‌بندی می‌شوند. حسگر زیستی نوری<sup>۱</sup> و حسگر شیمیایی جرمی<sup>۲</sup> حسگرهایی هستند که یک گونه زیستی یا بیولوژیکی را با استفاده از روش نوری یا جرمی اندازه‌گیری می‌کنند. اگر عنصر تشخیصی، یک گونه بیولوژیکی باشد این حسگر می‌تواند برای اندازه‌گیری مواد زیستی و بیولوژیکی مورد استفاده قرار بگیرد، که به آن حسگر زیستی گفته می‌شود. اگر برای تولید سیگنال خروجی از مبدل‌های الکتروشیمیایی استفاده شود، به آن حسگر الکتروشیمیایی گفته می‌شود. ترکیب حسگرهای زیستی در تشخیص و حسگرهای شیمیایی در مبدل، حسگرهای زیستی الکتروشیمیایی را نتیجه می‌دهد که کاربردهای مهمی در حسگرها دارند. انواع حسگرها در شکل (۲-۲) نشان داده شده است.



شکل ۲-۲- انواع حسگرها

حسگرهای زیستی: ابزارهایی هستند که قادرند داده‌های حاصل از فرآیندهای بیولوژیکی را به سیگنال خارجی (الکترونیکی) تبدیل کنند. اولین بخش از یک حسگر زیستی، گیرنده زیستی<sup>۳</sup> است که باید در سطح حسگر تثبیت شود.

<sup>۱</sup> Optical Biosensor

<sup>۲</sup> Mass Chemical Sensor

<sup>۳</sup> Bio Receptor

گیرنده زیستی با استفاده از یک لایه زیست سازگار<sup>۱</sup> به سطح حسگر متصل می‌شود. وظیفه این لایه زیست سازگار ایجاد یک ماتریسی است که گیرنده‌های بیولوژیکی<sup>۲</sup> یا گیرنده‌های زیستی، به صورت کاملاً موثری به سطح حسگر متصل شوند. بسته به اینکه حسگر از چه نوع تبدیلی استفاده می‌کند، بخش مبدل در اجزای تشکیل دهنده حسگر زیستی مطرح می‌شود. در اثر برهم کنش<sup>۳</sup> بین نمونه و حسگر زیستی<sup>۴</sup> سیگنالی ایجاد می‌شود که به بخش تقویت کننده سیگنال<sup>۵</sup> فرستاده می‌شود. نکته‌ای که در اینجا مطرح می‌شود این است که عموماً غلظت نمونه آنالیت در گونه‌های زیستی مقادیر خیلی کمی دارد. بنابراین نمونه‌های که تولید می‌شود از لحاظ اندازه مقدار عددی کوچکی دارند. در نتیجه خیلی از اوقات ما نیاز داریم که این سیگنال‌ها را قبل از اینکه به بخش بعدی بفرستیم، در بخش تقویت کننده سیگنال تقویت کنیم و به بخش پردازش کننده<sup>۶</sup> داده منتقل کنیم و در نتیجه یک مقدار عددی قابل مشاهده است [۱۶]. این حسگرها برای انواع نمونه‌های انسانی: خون، ادرار، بزاق، نمونه‌های خوراکی و یا نمونه‌های محیط زیستی قابل استفاده هستند.

زمانی می‌توانیم به یک حسگر، واژه‌ی حسگر زیستی نسبت دهیم، که به عنوان عامل تشخیصی، یک ماده فعال بیولوژیکی در سطح آن تثبیت شده باشد. در مقالات و پژوهش‌های گذشته این موضوع مطرح شده است، صرف نظر از اینکه یک حسگری بتواند یک ماده بیولوژیکی را اندازه‌گیری بکند به آن زیست حسگر نمی‌گویند، این تعریف درست و دقیقی از زیست حسگر نیست. زیست حسگر وسیله‌ای است که حتماً در سطح حسگر باید یک گیرنده زیستی یا مولکول زیستی تثبیت شده باشد [۱۷].

---

۱ Biocompatible Layer

۲ Biological Receptors

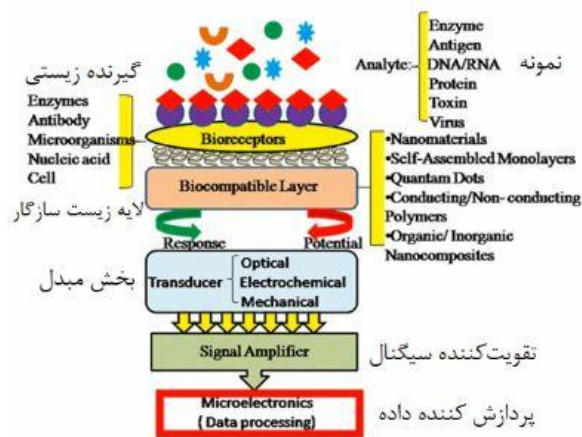
۳ Interaction

۴ Bio Receptor

۵ Signal Amplifier

۶ Processor

شکل (۳-۲) شمای کلی یک زیست حسگر را نشان می دهد.



شکل ۳-۲- شمای کلی یک زیست حسگر

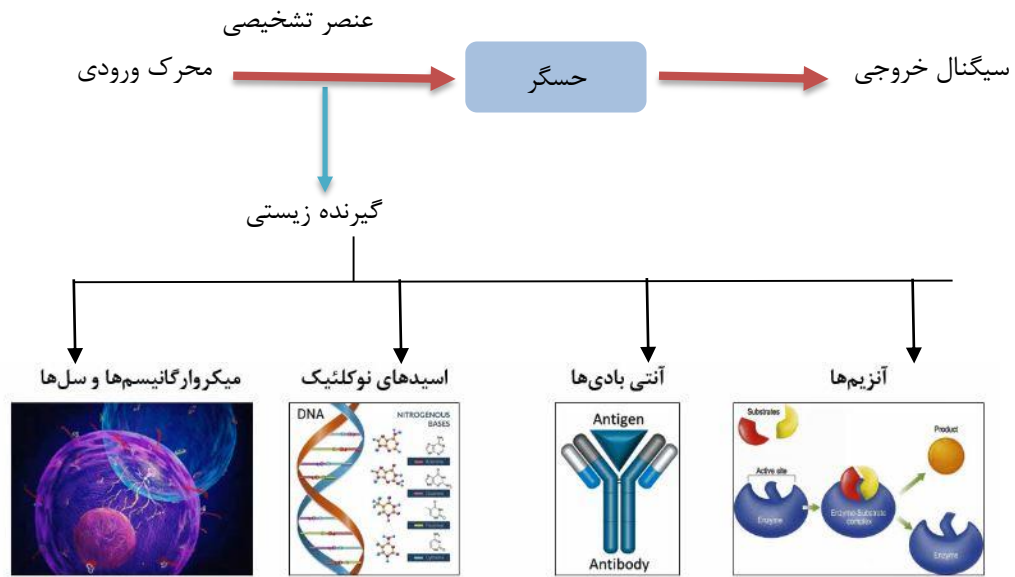
## ۲-۱-۲ انواع گیرنده های زیستی

همانطور که در بخش قبل به آن اشاره شد، محرک ورودی با استفاده از یک عنصر تشخیصی به یک سیگنال خروجی تبدیل می شود. این عنصر تشخیصی در بحث حسگرهای زیستی، یک گیرنده زیستی است. این گیرنده های زیستی می توانند شامل انواع: آنزیمها (مولکول های پروتئینی)، آنتی بادی ها<sup>۱</sup> (مولکول های سیستم ایمنی)، اسیدهای نوکلئیک<sup>۲</sup>، و یا از میکروارگانیسم ها<sup>۳</sup> و سلول ها در ساخت حسگرهای زیستی استفاده شود. در شکل (۴-۲) انواع گیرنده های زیستی به خوبی قابل نمایش هستند.

۱ Antibodies

۲ Nucleic Acids

۳ Microorganisms



شکل ۲-۴- انواع گیرنده‌های زیستی

انواع سیگنال‌های خروجی و روش‌های آشکارسازی به‌طور کلی به پنج دسته تقسیم‌بندی می‌شوند:

- روش‌های نوری
- رنگ‌سنجی<sup>۱</sup>
- حرارتی<sup>۲</sup>
- جرمی<sup>۳</sup>
- الکتروشیمیایی

روش آشکارسازی استفاده شده در این پژوهش، روش الکتروشیمیایی است.

### ۲-۱-۳ ویژگی‌های حسگرها

یک حسگر ایده‌آل باید ویژگی‌های ذیل را داشته باشد [۱۸]:

۱ Colorimetric

۲ Thermal

۳ Jeremy

- ۱- حساسیت<sup>۱</sup>: مقدار تغییرات سیگنال خروجی به ازای تغییرات جزئی در کمیت محرک ورودی را اندازه‌گیری می‌کند.
- ۲- گزینش‌پذیری<sup>۲</sup>: در حالت ایده‌آل تنها به یک جزء (کمیت تحت اندازه‌گیری) پاسخ دهد.
- ۳- زمان پاسخ<sup>۳</sup>: زمان پاسخ‌دهی تا حد ممکن کوتاه باشد.
- ۴- حد تشخیص<sup>۴</sup>: حد تشخیص اندازه‌گیری از حداکثر غلظت موثر گونه آنالیت کمتر باشد.
- ۵- تکرارپذیری پاسخ‌ها<sup>۵</sup>: رفتار تکرارپذیر داشته باشد به طوری که پاسخ‌های حسگر هر دفعه با پاسخ‌های قبلی هم‌خوانی داشته باشد.
- ۶- قابل حمل بودن<sup>۶</sup>: در ابعاد کوچک و قابل حمل باشد.
- ۷- راحتی کاربرد<sup>۷</sup>: کار با آن راحت باشد به گونه‌ای که برای افراد آموزش ندیده قابل استفاده باشد.
- ۸- طول عمر حسگر<sup>۸</sup>: یک‌بار مصرف نبوده و طول عمر قابل قبولی داشته باشد.
- ۹- ارزان و مقرون به صرفه<sup>۹</sup>: از لحاظ اقتصادی مقرون به صرفه باشد.
- ۱۰- امکان آنالیزهای حقیقی<sup>۱۰</sup>: برای آنالیز نمونه‌های حقیقی مناسب و قابل استفاده باشد.

## ۲-۲ مقدمه‌ای بر الکتروشیمی

الکتروشیمی علمی است که بر پایه‌ی واکنش‌های اکسایش-کاهش استوار است. واکنش‌های اکسایش-کاهش (واکنش‌های ردوکس<sup>۱۱</sup>)، با نقل و انتقال الکترون همراه هستند. نیم‌واکنش از دست دادن الکترون را نیم‌واکنش اکسایش گویند. و نیم‌واکنش گرفتن الکترون را نیم‌واکنش کاهش (احیا) تعریف می‌کنند.

- 
- ۱ Sensivity
  - ۲ Selectivity
  - ۳ Response time
  - ۴ Lod
  - ۵ Repeatability
  - ۶ Portability
  - ۷ User friendly
  - ۸ Long term stability
  - ۹ Low-cost
  - ۱۰ Real-time analysis
  - ۱۱ Redox Reaction

## ۱-۲-۲ زیست حسگرهای الکتروشیمیایی

زیست حسگرهای الکتروشیمیایی شامل دو بخش الکتروشیمیایی و زیست حسگری می‌باشند.

### ۱-۲-۲-۱ ویژگی‌های زیست حسگرهای الکتروشیمیایی

- بخش الکتروشیمیایی شامل: دقت و صحت بالا، زمان پاسخدهی کوتاه، بدون نیاز به مراحل آماده‌سازی نمونه، نیاز به مقادیر کم نمونه، امکان کوچک‌سازی و مجتمع‌سازی با اجزای الکترونیکی است.
- بخش زیست حسگری نیز شامل: گزینش‌پذیری بالا، اختصاصی بودن برهم‌کنش‌ها و دستیابی به حد تشخیص‌های پایین است.

### ۲-۱-۲-۲ معایب زیست حسگرهای الکتروشیمیایی

- نبود امکان استریلیزه کردن<sup>۱</sup> دمایی به دلیل دناتور<sup>۲</sup> شدن (عملکرد زیستی خود را از دست بدهند) گیرنده بیولوژیکی
- مسموم شدن گیرنده‌های تثبیت شده در سطح الکتروود به وسیله بعضی مولکول‌ها
- ناپایداری مواد بیولوژیکی و حساس بودن آن‌ها به شرایط محیطی (دما، pH و یا حضور یون‌ها)

### ۳-۲ سلول‌های<sup>۳</sup> الکتروشیمیایی

نمونه‌های اندازه‌گیری درون سلول‌های الکتروشیمیایی قرار می‌گیرند.

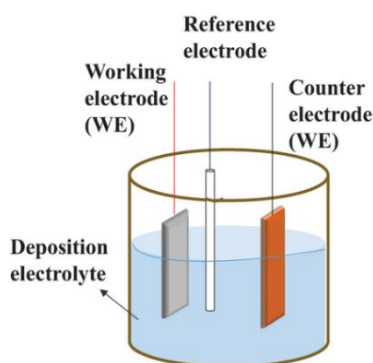
### ۴-۲ انواع الکتروود

انواع الکتروود کار در شکل (۲-۵) نشان داده شده است.

۱- الکتروود کار<sup>۴</sup> (WE)

۲- الکتروود مقابل<sup>۵</sup> (CE)

۳- الکتروود مرجع<sup>۶</sup> (RE)



شکل ۲-۵- ساختار کلی الکتروودهای کار

۱ Sterilize

۲ Denator

۳ cells

۴ Working Electrode

۵ Counter Electrode

۶ Reference Electrode

## ۲-۴-۱ الکتروود کار

مهم‌ترین بخش سیستم الکتروشیمیایی است که واکنش مورد نظر در سطح آن (فصل مشترک الکتروود/الکتروولیت) اتفاق می‌افتد.

### ۲-۴-۱-۱ ویژگی‌های الکتروودهای کار

- دارا بودن رفتار ردوکس مناسب (فرآیند انتقال الکترون سریع و برگشت پذیر)
- دارا بودن پنجره پتانسیل وسیع در محلول‌های الکتروولیت
- اقتصادی بودن و امکان نوسازی سطح الکتروود پس از آلوده شدن سطح
- قابلیت اصلاح سطح الکتروود

### ۲-۴-۲ الکتروود مقابل

برای کامل کردن نیم واکنش‌های ردوکس در محیط الکتروولیت استفاده می‌شود. نقشی در واکنش ندارد و فقط به عنوان بستری، برای کامل کردن چرخه انتقال الکترون به کار می‌رود.

### ۲-۴-۳ الکتروود مرجع

نقش این الکتروود، تولید یک پتانسیل مشخص و ثابت در شرایط آزمایشگاهی است که پتانسیل الکتروود کار نسبت به آن سنجیده شود.

### ۲-۵ انواع روش‌های اندازه‌گیری الکتروشیمیایی

به طور کلی، آنالیزهای الکتروشیمیایی بر اساس چند روش استوار هستند [۱۹]:

۱- اندازه‌گیری پتانسیل ایجاد شده بین دو الکتروود: روش پتانسیومتری<sup>۱</sup>

۲- اندازه‌گیری جریان الکتروکی

- در پتانسیل ثابت: روش آمپرومتری<sup>۲</sup>
- در حین اعمال تغییرات پتانسیل: روش‌های ولتامتری<sup>۳</sup>

۳- بررسی تغییرات قابل اندازه‌گیری در ویژگی‌های هدایتی محلول: هدایت‌سنجی<sup>۴</sup>

---

۱ Potentiometric Method  
۲ Amprometric Method  
۳ Voltammetric Methods  
۴ Navigation

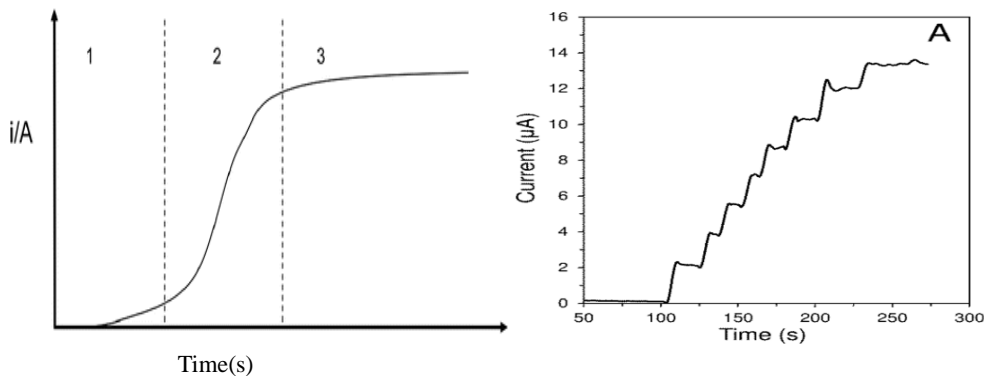
۴- مطالعه تغییرات مقاومت سطح الکتروود: امپدانس<sup>۱</sup> الکتروشیمیایی

روش استفاده شده در این پژوهش، بر مبنای جریان الکتریکی آمپرومتری است.

## ۲-۵-۱ روش آمپرومتری

تکنیک آمپرومتری از اندازه‌گیری شدت جریان حاصل از واکنش اکسایش-کاهش (واکنش‌های ردوکس) گونه الکتروفعال<sup>۲</sup> در سطح الکتروود کار در یک پتانسیل ثابت به دست می‌آید. اساس آمپرومتری بر پایه رابطه بین شدت جریان الکتریکی (آندی و یا کاتدی) و غلظت ترکیب الکتروفعال (ترکیبی که در تولید و یا مصرف الکترون در حین واکنش‌های ردوکس نقش دارد) استوار است. در مقایسه با تکنیک پتانسیومتری، روش آمپرومتری حساسیت بالاتری داشته و برای تولید انبوه مناسب‌تر است [۱۹].

در حسگرهای آمپرومتری، سطح الکتروود کار به وسیله یک گیرنده بیولوژیکی مناسب (عموماً آنزیم) پوشیده می‌شود. از برهم‌کنش گونه آنالیت با زیست‌مولکول موجود در سطح الکتروود تحت یک پتانسیل ثابت، جریان الکتریکی متناسب با غلظت گونه آنالیت ایجاد می‌شود. این جریان که در محدوده nA و یا  $\mu A$  است به وسیله دستگاه ثبت شده و برای اندازه‌گیری غلظت آنالیت استفاده می‌شود. شکل (۲-۶) نمودار یک حسگر آمپرومتری را نشان می‌دهد.



شکل ۲-۶- نمودار جریان-زمان، روش آمپرومتری

<sup>۱</sup> Impedance

<sup>۲</sup> Electrochemical Species



## ۶-۲ اجزای تشکیل دهنده زیست حسگرهای الکتروشیمیایی

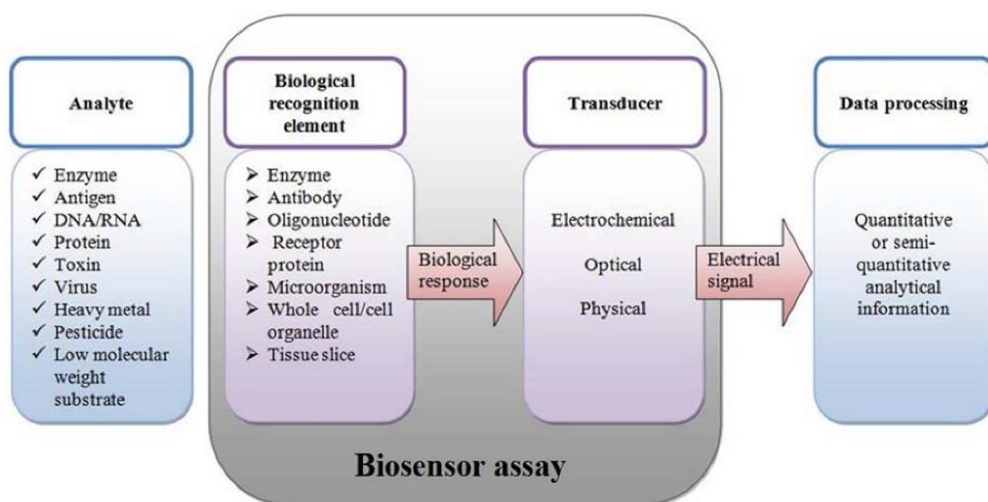
در شکل (۷-۲) اجزای تشکیل دهنده حسگرهای زیستی را می بینید.

۱- آنالیت

۲- عنصر تشخیصی بیولوژیکی

۳- مبدل

۴- پردازش داده ها



شکل ۷-۲- اجزای تشکیل دهنده زیست حسگرهای الکتروشیمیایی

## ۶-۲-۱ انواع حسگرهای زیستی بر حسب نوع گیرنده زیستی

در شکل (۸-۲) انواع حسگرهای زیستی بر حسب نوع گیرنده زیستی نشان داده شده است.

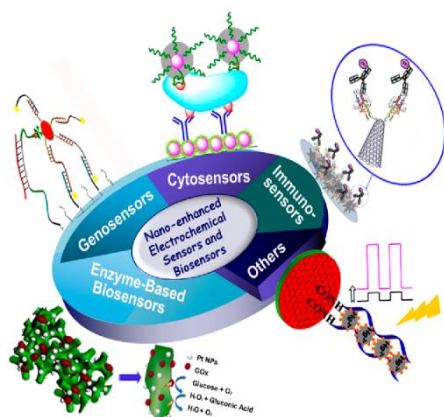
۱- کاتالیتیکی<sup>۱</sup>

- آنزیمها: حسگرهای آنزیمی
- سلولها: حسگرهای مبتنی بر سلول

۲- تمایلی

- آنتی بادیها: حسگرهای ایمنی
- اسیدهای نوکلئیک:

ژنوسگرها<sup>۲</sup>



شکل ۸-۲- انواع حسگرهای زیستی بر حسب نوع گیرنده زیستی

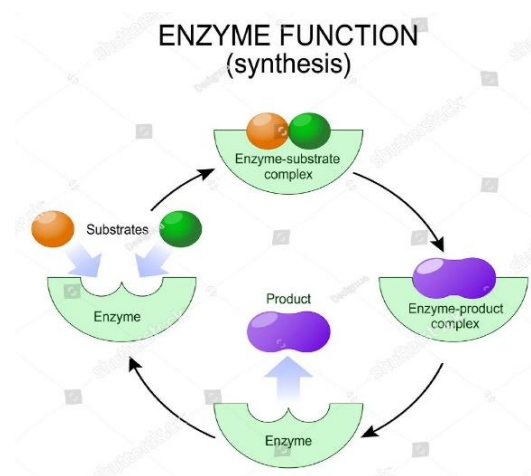
۱ Catalytic

۲ Genosensors

حسگر زیستی استفاده شده در این پژوهش براساس عنصر زیستی شناساگر آنزیم است.

## ۲-۶-۱-۱ حسگرهای آنزیمی

آنزیم ماده آلی با ساختار پروتئینی است که یک فرایند شیمیایی را در یک موجود زنده کاتالیز می‌کند ولی خودش وارد واکنش نمی‌شود. برخی آنزیم‌ها برای عملکرد خود به ترکیباتی به نام کوفاکتور<sup>۱</sup> (اجزای غیرپروتئینی برخی آنزیم‌ها) نیازمند هستند که می‌تواند ترکیبی آلی<sup>۲</sup> مانند بیوتین<sup>۳</sup> یا غیرآلی<sup>۴</sup> مانند یون منیزیم<sup>۵</sup> باشد. شکل (۲-۹) چرخه ترکیب آنزیم و تولید محصول را نشان می‌دهد.



شکل ۲-۹- سنتز آنزیم

## ۲-۶-۱-۲ عوامل موثر در عملکرد آنزیم‌ها

- دما: در دمای بالاتر، واکنش سریع‌تر رخ می‌دهد. با این حال، گاهی دما به قدری زیاد می‌شود که آنزیم دناتور می‌شود و عملکرد آن متوقف می‌شود.
- Ph: در بسیاری از موارد Ph یا اسیدیته<sup>۶</sup> محیط اطراف آنزیم و زیرلایه (سوبسترا<sup>۷</sup>) می‌تواند بر سرعت واکنش اثر بگذارد.
- غلظت: غلظت بالاتر پیش‌ماده یا آنزیم می‌تواند سرعت واکنش را افزایش دهد.

۱ Cofactor

۲ Organic Compound

۳ Biotin

۴ Inorganic

۵ Magnesium Ion

۶ Acidity

۷ Substrate

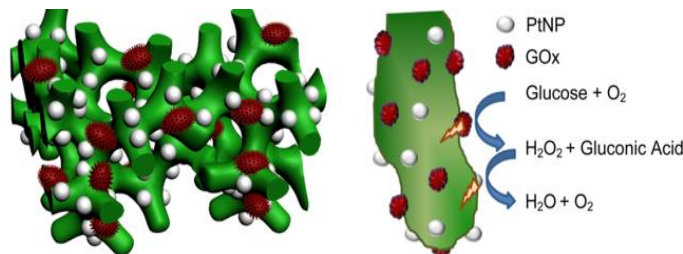
- مهارکننده: مهارکننده‌ها مولکول‌هایی هستند که فعالیت آنزیم‌ها را متوقف می‌کنند. آن‌ها ممکن است فقط سرعت واکنش را کند کرده و یا به طور کلی آن را متوقف کنند. (برخی پیوندهای مهارکننده با آنزیم باعث می‌شود شکل آنزیم تغییر کند و عملکرد آن مختل شود. در مقابل یک مهارکننده، یک فعال‌کننده است که می‌تواند کمک کند سرعت واکنش افزایش یابد.)

### ۳-۱-۶-۲ حسگرهای آنزیمی گلوکز

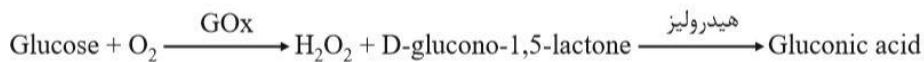
آنزیم گلوکز اکسیداز ( $GO_x$ ) یک آنزیم اکسیدو ردوکتاز<sup>۱</sup> است که واکنش تبدیل گلوکز به گلوکونولاکتون<sup>۲</sup> و پراکسید هیدروژن<sup>۳</sup> ( $H_2O_2$ ) را کاتالیز می‌کند. این آنزیم برای عملکرد کاتالیستی خود به کوفاکتور فلاوین آدنین دی نوکلئوتید<sup>۴</sup> (FAD) احتیاج دارد. آنزیم استفاده شده در این پژوهش، گلوکز اکسیداز است [۲۰].

### ۳-۱-۶-۱-۲ ساختار و عملکرد آنزیم گلوکز

شکل (۱۰-۲) ساختار کلی آنزیم گلوکز را نشان می‌دهد.



شکل ۱۰-۲ - ساختار کلی آنزیم گلوکز



<sup>۱</sup> Oxido\_Reductase

<sup>۲</sup> Gluconolactone

<sup>۳</sup> Peroxide Hydrogen

<sup>۴</sup> Flavin Adenine Dinucleotide

## ۲-۶-۱-۴ روش‌های اتصال آنزیم به سطح

مرحله تثبیت آنزیم در سطح یکی از مراحل مهم و کلیدی در طراحی و ساخت حسگرهای آنزیمی است.

## ۲-۶-۱-۵ انواع روش‌های تثبیت آنزیم

### ۱- شیمیایی

- اتصالات عرضی<sup>۱</sup>
- پیوند کوالانسی<sup>۲</sup>

### ۲- فیزیکی

- کپسوله کردن<sup>۳</sup>
- به دام اندازی<sup>۴</sup>
- جذب سطحی<sup>۵</sup>

## ۲-۶-۱-۵-۱ پیوند کوالانسی با سطح

متداول‌ترین روش تثبیت آنزیم در سطح است و ناشی از تشکیل پیوندهای قوی کوالانسی با سطح الکتروود است.

## ۶-۱-۵-۱-۱-۲ ویژگی‌های پیوند کوالانسی

- اتصال قوی آنزیم به سطح زیرلایه
- امکان استفاده از گستره وسیعی از زیرلایه‌ها با گروه‌های عاملی متفاوت

روش اتصال آنزیم به ترکیب در این پژوهش، شیمیایی و از نوع پیوند کوالانسی است و با استفاده از مولکول گلوکار آلدهید<sup>۶</sup> صورت پذیرفته است.

---

۱ Cross Linking

۲ Covalent Bonding

۳ Encapsulation

۴ Entrapment

۵ Adsorption

۶ Glutaraldehyde

## ۷-۲ نانومواد

موادی که حداقل یکی از ابعاد آنها در مقیاس ۱-۱۰۰ نانومتر باشد. در اصطلاح نانومواد<sup>۱</sup> نامیده می‌شوند.

### ۷-۲-۱ انواع نانومواد

- ۱- نانومواد صفر بعدی
- ۲- نانومواد یک بعدی
- ۳- نانومواد دو بعدی
- ۴- نانومواد سه بعدی

### ۷-۲-۲ خواص نانومواد

- خواص منحصر به فرد و جالب آنها در مقیاس نانومتری در مقایسه با حالت توده<sup>۲</sup>
- نسبت سطح به حجم بالا، یعنی افزایش قابل توجه اتم‌های سطحی نسبت به کل اتم‌ها
- خواص حرارتی
- خواص نوری
- خواص الکتریکی یا هدایت الکتریکی
- خواص مکانیکی

### ۷-۲-۳ کاربردهای نانومواد

- کاتالیست‌ها<sup>۳</sup>
- آب و محیط زیست
- بیوتکنولوژی و پزشکی
- انرژی
- سلول‌های خورشیدی
- مواد پلیمری<sup>۴</sup> و کامپوزیتی<sup>۵</sup>
- حسگرها
- 

---

۱ Nanomaterials

۲ Bulk

۳ Catalysts

۴ Polymer Materials

۵ Composite

## ۲-۷-۴ نقش نانومواد در بهبود عملکرد حسگری

- افزایش هدایت الکتریکی
- به کارگیری نانوذره<sup>۱</sup> به عنوان گیرنده زیستی جهت افزایش و تقویت سیگنال‌های الکتریکی

## ۲-۷-۵ مواد نانوساختار برای زیست حسگری

- ۱- نانومواد صفر بعدی: نانوذره
- ۲- نانومواد یک بعدی: کربن<sup>۲</sup>
- ۳- نانومواد دو بعدی: گرافن<sup>۳</sup>

## ۲-۸ روش‌های عامل‌دار کردن نانولوله‌ها

نانولوله‌ها به دلیل سطح آب‌گریز تمایل به تجمع دارند، بنابراین برای پراکندگی بهتر در محلول‌ها و پلیمرها، سطح آن‌ها با گروه‌های عاملی مختلف اصلاح می‌شوند.

- پلیمرها
- پروتئین
- آنزیم‌ها
- DNA<sup>۱</sup>

## ۲-۸-۱ پلیمرهای هادی<sup>۵</sup>

رسانش الکتریکی تنها در حالتی برقرار می‌شود که ناخالصی‌هایی مناسب برای ایجاد سطوح انرژی غیرمجاز در شکاف انرژی وجود داشته باشند. [۱۷].

متداول‌ترین پلیمرهای رسانا: پلی تیوفن<sup>۶</sup>، پلی آنیلین<sup>۷</sup>، پلی پروپیل<sup>۸</sup>، پلی پارافنیلین<sup>۹</sup> مونومر موادی هستند، تشکیل شده از مولکول‌های واحد؛ که از پیوستن آن‌ها پلیمر به وجود می‌آید.

---

۱ Nanoparticles  
۲ Carbon  
۳ Graphene  
۴ Deoxyribo Nucleic Acid  
۵ Conductive Polymer  
۶ Poly Thiophene  
۷ Polyaniline  
۸ Polypropylene  
۹ Polyphenylene

## ۲-۸-۲ کاربرد پلیمرهای هادی

- پوشش‌های ضد الکتروسیته ساکن
- پوشش‌های ضد خوردگی
- زیست‌حسگرها

## ۳-۸-۲ کاربرد و نقش پلیمرهای هادی در طراحی و ساخت حسگرهای زیستی

- حد واسط بین مواد بیولوژیکی و سطح الکتروود
- رابط الکترونیکی ترکیبی بین یک حامل یونی و یکی حامل بار الکترونی
- بهبود تثبیت ماده زیستی
- ایجاد لایه‌های محافظتی برای کنترل انتشار

## آمونیم پرسولفات<sup>۱</sup>

یک ترکیب معدنی است که جرم مولی آن ۲۲۸/۱۸ می‌باشد. به عنوان یک عامل اکسیدکننده در شیمی پلیمر استفاده می‌شود.

## ۱۰-۲ پلی آنیلین<sup>۲</sup>

آنیلین یک ترکیب شیمیایی است که شکل ظاهری آن روغن مانند و بی‌رنگ است

## ۱۱-۲ نانوذره نقره<sup>۳</sup>

از دیرباز تاکنون، نقره به علت خواص ضد باکتریایی خود شهرت یافته است. در واقع نانوذرات نقره به علت رهایش یون نقره چنین خاصیتی را علیه باکتری‌های هوازی و بی‌هوازی از خود نشان می‌دهند. بررسی‌های انجام گرفته حاکی از آن است که ۵۶ درصد از سهم نانوذرات جهان به نانوذرات نقره اختصاص یافته است [۲۲]. استفاده از این ذرات در زیست‌حسگرها به منظور تشخیص و درمان بیماری‌هایی نظیر سرطان نیز بسیار ارزشمند است.

---

<sup>۱</sup> Ammonium Persulfate

<sup>۲</sup> Polyaniline

<sup>۳</sup> Silver Nanoparticles

خواص دی‌الکتریک<sup>۱</sup> این ذرات در زیست‌حسگرها امکان تشخیص اختلالات و بیماری‌ها (مانند سرطان) را فراهم می‌سازد. ویژگی‌های پلاسمونیک<sup>۲</sup> (در فیزیک به نوسانات الکترون‌های آزاد یک محیط پلاسمایی، پلاسمونیک می‌گویند)، نانوذرات نقره سبب شده است که از آن‌ها در تصویربرداری‌های پزشکی [۲۳] و حسگرهای پلاسمونیک نیز استفاده شوند. از کاربردهای مهم نانوذرات نقره می‌توان به نقش این ذرات به عنوان حامل دارو و ژن اشاره نمود زیرا نانوذرات علاوه بر افزایش ورود این ترکیبات به بدن، اثرات هم‌افزایی علیه میکروارگانیسم‌ها<sup>۳</sup> را ایجاد می‌کنند و سبب بالا رفتن کارایی می‌شوند [۲۴]. مکانیزم عملکرد این حسگرها به این ترتیب است که نور با الکترون‌های سطح حسگرها برهم‌کنش داده و آن‌ها را به نوسان در می‌آورد، در نهایت نور جذب شده و پراش<sup>۴</sup> (پدیده‌ای است که هنگام برخورد موج با یک مانع یا شکاف به صورت خمش موج، مانع شکاف و انتشار آن به درون ناحیه سایه تعریف می‌شود)، می‌یابد و امکان‌شناسایی ویروس‌ها و باکتری‌ها را فراهم می‌کند [۲۴].

## ۲-۱۲ اسید کلریدریک<sup>۵</sup>

کلرید هیدروژن گازی بی‌رنگ با بوی تند و با طمع اسیدی است و از هوا سنگین‌تر می‌باشد. این ماده به آسانی به مایع تبدیل شده و یک مایع بی‌رنگ را ایجاد می‌نماید. این ماده با فلزات و اکسیدهای فلزی و هیدروکسید آنها ترکیب می‌شود. گاز کلرید هیدروژن در صورتی که در آب حل شود، اسید کلردیک (جوهر نمک) نامیده می‌شود.

## ۲-۱۳ تتراهیدروفوران<sup>۶</sup>

تتراهیدروفوران (THF) یک ترکیب آلی با فرمول شیمیایی (CH<sub>2</sub>O<sub>4</sub>) است؛ که به عنوان آغازگر در پلیمرها استفاده می‌شود. کامپوزیت استفاده شده در این پژوهش، نانوذره نقره بر پایه‌ی پلیمر هادی تتراهیدروفوران پلی‌آنیلین است.

---

۱ Dielectric  
۲ Plasmonic  
۳ Microorganisms  
۴ Diffraction  
۵ Hydrochloric Acid  
۶ Tetrahydrofuran



## ۲-۱۴ اهمیت آشکارسازی

- تشخیص زودهنگام بیماری‌ها
- تشخیص ویروس‌ها و عوامل بیماری‌زا

## ۲-۱۴-۱ روش‌های آشکارسازی زیست‌حسگرها

- ۱- بدون برچسب<sup>۱</sup>
  - ۲- دارای برچسب<sup>۲</sup>
- برچسب آنزیمی
  - برچسب نانوذره‌ای

## ۲-۱۴-۱-۱ روش بدون برچسب

روش بدون برچسب این امکان را به کاربر می‌دهد که به صورت مستمر وضعیت پیوستگی واکنش یک سیستم را مشاهده نماید و داده‌های کمی با دقت بالا از سنتیک آن را اندازه‌گیری کند. آزمایش‌های بدون برچسب به طور معمول مبتنی بر سطح اند. به گونه‌ای که سطح مبدل با لایه‌ای از مولکول‌های گیرنده، عامل دار می‌شود. با وجود این تکنیک توسعه آزمایش‌ها بسیار آسان شده و به راحتی می‌توان آرایه‌های پیچیده‌ای از آن‌ها طراحی نمود زیرا فقط یک المان شناسایی‌کننده برای یک آنالیت مورد نیاز است. حسگر خود شامل یک مبدل است که در آن رویداد اتصال، موجب تغییر یک ویژگی فیزیکی حسگر می‌شود که مورد اندازه‌گیری واقع خواهد شد. به عبارت دیگر روش سنجش بدون برچسب از خواص فیزیکی مولکول‌ها مانند جرم، ضریب شکست و بار الکتریکی مولکول برای تحلیل فعالیت مولکول استفاده می‌نماید. اصلی‌ترین مزیت برای روش بدون برچسب سنجش اطلاعات به صورت مستقیم است.

روش آشکارسازی استفاده شده در این پژوهش، بدون برچسب است.

---

<sup>۱</sup> Label-Free Detection

<sup>۲</sup> Label-Based Detection

## ۲-۱۵ تجاری شدن حسگرهای زیستی

از نظر بازار تجاری نیز حسگرهای زیستی قابل اهمیت هستند. بازار زیست‌حسگرها در سال‌های ۲۰۰۳، ۲۰۰۷، ۲۰۱۵، ۲۰۱۶ به ترتیب ۷/۳، ۱۰/۲، ۱۴/۸ و ۱۶ میلیارد دلار بوده است و پیش‌بینی می‌شود با رشدی سالیانه ۸/۸ درصدی تا سال ۲۰۲۲ به بیش از ۲۷ میلیارد دلار برسد. این اعداد به معنی بازاری بزرگ و با رشدی نسبتاً سریع است. حدود ۶۶ درصد از بازار مربوط به کاربرد در بخش پزشکی است. از لحاظ جغرافیایی، آمریکای شمالی در بازار بین‌المللی زیست‌حسگرها مهم‌ترین سهم را دارد، در حالی که اروپا و آسیای شرقی و جنوبی سریع‌ترین رشد را در این بازار داشته‌اند. براساس تکنولوژی، زیست‌حسگرهای الکتروشیمیایی بیشترین سهم را در بازار زیست‌حسگرها دارد.

## ۲-۱۵-۱ شرایط لازم جهت تجاری کردن حسگرهای زیستی

- امکان طراحی و ساخت حسگرها با ویژگی‌های مطلوب از قبیل حساسیت و گزینش‌پذیری بالا، ارائه پاسخ‌های تکرارپذیر در زمان کوتاه، راحتی و آسانی کاربری
- امکان تولید انبوه
- صرفه اقتصادی
- برآورد نیاز بازار

## ۲-۱۵-۲ زمینه‌های تجاری‌سازی

- ۱- صنایع غذایی
- ۲- کاربردهای کلینیکی<sup>۱</sup>
- ۳- تهدیدهای بیولوژیکی
- ۴- کاربردهای محیط زیستی

## ۲-۱۵-۳ انواع حسگرهای زیستی تجاری

- ۱- حسگرهای چاپی<sup>۲</sup>
- ۲- حسگرهای میکروفلوئیدیک<sup>۳</sup>
- ۳- حسگرهای پوشیدنی<sup>۴</sup>
- ۴- حسگرهای پوستی<sup>۵</sup>
- ۵- حسگرهای کاشتنی<sup>۶</sup>

---

<sup>۱</sup> Clinical  
<sup>۲</sup> Printed Sensors  
<sup>۳</sup> Microfluidic Sensors  
<sup>۴</sup> Wearable Sensors  
<sup>۵</sup> Skin Sensors  
<sup>۶</sup> Implantable Sensors

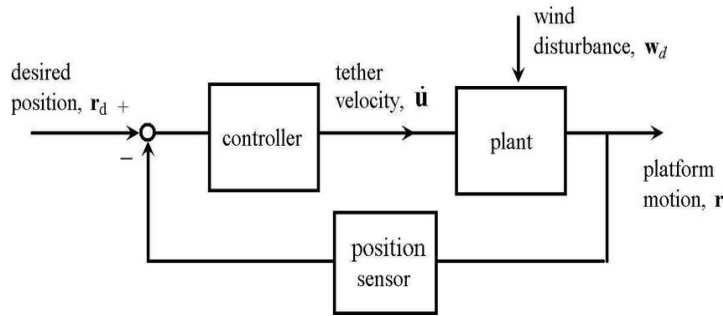
# فصل سوم: مدل سازی ریاضی تشخیص سرطان

### ۳-۱ اهمیت تشخیص زودهنگام سرطان با استفاده از حسگر

سلول به‌عنوان مهم‌ترین و کوچک‌ترین واحد زنده‌ی مستقل بدن انسان و بسیاری از جانداران شناخته می‌شود. این سلول‌ها در بدن انسان در حال تقسیم و تکثیر هستند. گاهی در فرآیند تکثیر سلولی، یک سلول معیوب تولید می‌شود. سیستم ایمنی بدن، طی فرآیندی این سلول معیوب را نابود می‌کند و اجازه تقسیم آن را نمی‌دهد. به هر علتی اگر این فرآیند مختل شود، زمینه رشد سلول‌های معیوب فراهم شده و با تکثیر آن‌ها هسته اولیه تومور به وجود خواهد آمد. ساختار رشد بافت‌های توموری نسبتاً سریع است. این مکانیزم رشد تومور، در شرایطی که هیچ تغییر بیولوژیکی دیگری در آن رخ ندهد، منجر به تبدیل تومور به حالت تعادل سیستم می‌شود. یکی از مهم‌ترین مشکلات در درمان سرطان، بحث تشخیص به موقع و زودهنگام آن است. بسیاری از بیماران به دلیل تشخیص دیرهنگام این بیماری قادر به درمان آن نبوده‌اند که از جمله دلایل آن سخت بودن روندهای تشخیصی این بیماری است. بیماران به دلیل روش‌های درمان این نوع بیماری، از نظر روحی و جسمی بسیار آسیب‌پذیر می‌شوند. تجهیزات رایج برای تصویربرداری، دارای مشکلاتی از جمله هزینه بالا و زمان‌بر بودن هستند و سبب ایجاد استرس در افراد می‌شوند. بنابراین ساخت یک حسگر زیستی بسیار حساس و داشتن بهترین روش برای تشخیص درست، و درمان سریع بسیار لازم و ضروری است. در حال حاضر روش‌های زیادی برای تشخیص سرطان معرفی شده است. مهم‌ترین روش‌هایی که مورد توجه و توسعه واقع شده، شامل؛ روش‌های تشخیصی با استفاده از نقاط کوانتومی، تصویرسازی تشدید مغناطیسی (ام‌آر‌آی)، حسگرها و زیست‌حسگرهای تشخیص سرطان در شرایط آزمایشگاهی است. برتری روش تشخیصی توسط حسگرهای زیستی این است که، حسگرها و زیست‌حسگرها به دلیل کارایی بالا، باعث تغییرات اساسی در چگونگی تشخیص سرطان می‌شوند. در آزمایشگاه‌های تشخیص سرطان، با بهبود الکترودها و تجهیزات، زمان پاسخ‌دهی کوتاه شده و خطای تشخیص به حداقل می‌رسد. همچنین زیست‌حسگرها این امکان را می‌دهند که حسگرهایی کوچک و قابل حمل تولید شود. در نتیجه، بدون نیاز به مراجعه به آزمایشگاه، تشخیص بیماری در مطب پزشک نیز امکان‌پذیر خواهد بود.

### ۳-۲ روش کنترلی تشخیص و درمان

در شکل (۳-۱) جایگاه حسگر، در نمودار بلوکی یک کنترلر مدار بسته مشخص شده است.



شکل ۳-۲- نمودار بلوکی کنترل

روش‌های کنترلی مختلفی برای حل این مشکل استفاده شده است. در استفاده از روش‌های کنترلی در درمان سرطان، از روش‌های مدار باز و مدار بسته بهره گرفته شده است. کاهش حساسیت نسبت به تغییر در پارامترهای سیستم یکی از مزیت‌های استفاده از روش کنترل مدار بسته می‌باشد. رفتار کیفی سیستم‌های دینامیکی ممکن است به دلیل تغییرات در پارامترهای آن‌ها شدیداً تغییر کند. یکی از روش‌های کنترلی روش SDRE است؛ یک روش سیستماتیک، زیربهبوده و مقاوم برای سیستم‌های غیرخطی می‌باشد که امروزه بسیار مورد توجه قرار گرفته است.

### ۳-۲-۱ نظریه کنترل بهینه SDRE

فرض می‌شود سیستم غیرخطی نامتغیر با زمان و مشاهده‌پذیر به شکل رابطه (۳-۱) و تابع هدف برای بهینه‌سازی به شکل رابطه (۳-۲) باشد:

$$\dot{x} = A(x)x(t) + B(x)u(t) \quad (۳-۱)$$

$$J(x, u, t) = \frac{1}{2}x^T(t_f)H_x(t_f) + \int_0^\infty (x^T Q x + u^T R u) dt \quad (۳-۲)$$

که در آن،  $R$  و  $Q$  ماتریس‌های وزنی متقارن مثبت معین و  $R$  نیز ماتریس وزنی اکیدا مثبت معین می‌باشند. انتخاب ماتریس‌های وزنی  $R$  و  $Q$  نقش مهمی در عملکرد سیستم کنترلی دارند. فرم کلی ورودی کنترلی به صورت رابطه (۳-۳) محاسبه می‌شود:

$$u = -R^{-1}B^T(x)P(x)x \quad (۳-۳)$$

ماتریس‌های حالت داده شده در رابطه (۳-۱) یکتا نیستند. بهتر است در حل مسائل، حالتی انتخاب شود که ماتریس‌های  $A(x)$  و  $B(x)$  حداکثر کنترل‌پذیری را دارا باشند.

### ۳-۳ مدل ریاضی سرطان

برای بررسی دینامیک تومور از مدل ریاضی ارائه شده در [۲۵] استفاده می‌کنیم. این مدل معرفی ساده‌ای از تعامل بین سلول‌های اثرگذار  $x(t)$  با سلول‌های تومور  $y(t)$  را ارائه می‌دهد. از آنجا که بیماری سرطان، تغییر در دینامیک سیستم بدن توسط ورودی‌های مخرب و تضعیف سیستم ایمنی بدن می‌باشد [۲۶]، باید روش درمانی ارائه شده، این تغییرات مخرب را اصلاح کند. به عبارت دیگر، باید تغییر ماندگار در دینامیک سیستم ایجاد نماید.

با توجه به مطالب بیان شده در فوق، اثر درمان ترکیبی شیمی‌درمانی و واکسن درمانی در معادلات (۳-۴) تا (۳-۹) در نظر گرفته شده است. باید توجه داشت که به خاطر تاخیرهای دینامیکی، اثر کامل واکسن درمانی در بیماران با تاخیر زمانی ظاهر می‌شود، بنابراین در این مدل از یک سیستم دینامیک اشباع برای تغییر دادن پارامترهای سیستم استفاده شده است. اثر واکسن بر روی پارامترهای  $\sigma$ ،  $\delta$  و  $\mu$  لحاظ شده است [۲۷]. در این مدل اصلاح شده اثر واکسن درمانی در مدل ریاضی توسط جمله  $v_v(t) \geq 0$  نشان داده شده است. فرض می‌شود که نرخ تغییرات این پارامترها با اندازه بزرگی ورودی  $v_v(t)$  متناسب است [۲۸، ۲۹]. مقادیر  $\mu_\sigma$ ،  $\mu_\delta$  و  $\mu_\mu$  به ترتیب به دینامیک‌های  $\sigma$ ،  $\delta$  و  $\mu$  بستگی دارند. این ضرایب به صورت اشباعی به حدود نهایی  $k_\sigma$ ،  $k_\delta$  و  $k_\mu$  که مربوط به محدودیت‌های زیستی عضوهای بدن و انباشتگی اثرات خارجی هستند اشباع می‌شوند. علاوه بر این اثر شیمی‌درمانی با جمله  $M(t)$  وارد معادلات می‌شود که  $V_M(t)$  مقدار عامل شیمی‌درمانی تزریق شده در هر روز به ازای هر لیتر خون است.

$$\frac{dx}{d\tau} = \sigma - \delta x + \rho x \frac{y}{y + \eta} - \mu xy - K_x Mx \quad (۴-۳)$$

$$\frac{dy}{d\tau} = \alpha y(1 - \beta y) - xy - K_y My \quad (۵-۳)$$

$$\frac{dM}{d\tau} = -\xi M + V_M(t) \quad (۶-۳)$$

$$\frac{d\sigma}{d\tau} = \mu_\sigma v_v(t) \left(1 - \frac{\sigma}{k_\sigma}\right) \quad (۷-۳)$$

$$\frac{d\delta}{d\tau} = \mu_\delta v_v(t) \left(1 - \frac{\delta}{k_\delta}\right) \quad (۸-۳)$$

$$\frac{d\mu}{d\tau} = \mu_\mu v_v(t) \left(1 - \frac{\mu}{k_\mu}\right) \quad (۹-۳)$$

در این مدل سلول‌های سالم با نرخ  $\sigma$  رشد کرده و با نرخ  $\delta$  به طور طبیعی از بین می‌روند. عبارت سوم در رابطه (۴-۳) نشان دهنده تحریک سلول‌های سالم به واسطه وجود سلول‌های سرطانی است که به صورت عبارت دارای اشباع با نرخ  $\rho$  مدل‌سازی شده است. سلول‌های سالم در اثر رقابت با سلول‌های سرطانی با نرخ  $\mu$  از بین می‌روند. سلول‌های سرطانی با نرخ  $\alpha$  تا حد اشباع  $\beta^{-1}$  رشد می‌کند. رفتار این جمله ناشی از محدودیت‌های زیستی می‌باشد. اثر شیمی‌درمانی با

ضرایب  $K_x$  و  $K_y$  در مدل، ارائه شده است. باید توجه داشت که میزان دوز داروی تزریقی نیز دارای محدودیت است؛ زیرا در غلظت بالا، مواد سمی آسیب جدی بر بافت‌های سالم بدن وارد می‌کنند.

### ۳-۴ حالت بدون درمان

مدل بدون درمان (دینامیک آزاد) به صورت زیر خواهد بود.

$$\frac{dx}{d\tau} = \sigma - \delta x + \rho x \frac{y}{y + \eta} - \mu xy \quad (۳-۴)$$

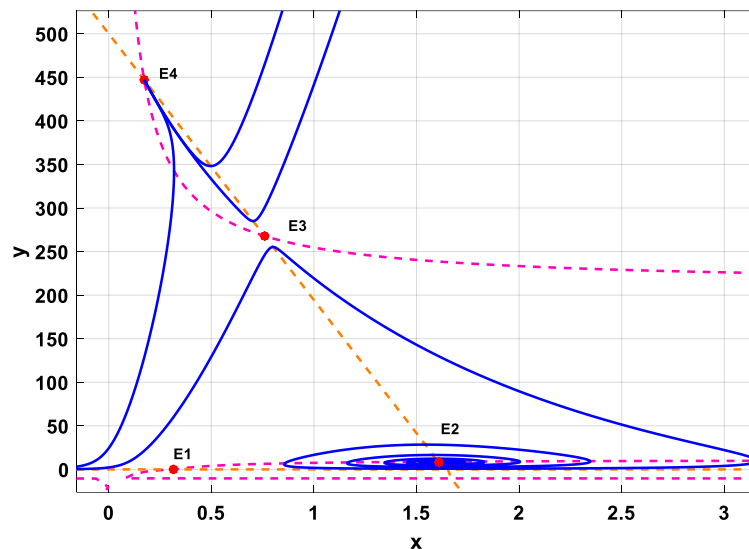
$$\frac{dy}{d\tau} = \alpha y(1 - \beta y) - xy \quad (۳-۵)$$

### ۳-۵ تعیین نقاط تعادل و بررسی پایداری

برای بررسی اثر پارامترهای سیستم، ابتدا نقاط تعادل و پایداری را بررسی می‌کنیم. به منظور تعیین نقاط تعادل سیستم، معادلات (۳-۴) و (۳-۵) را برابر با صفر قرار داده، و با حل آن‌ها نقاط تعادل به دست می‌آید. سیستم دارای دو نوع نقطه تعادل می‌باشد. نقطه تعادل بدون تومور که در آن جمعیت سلول‌های سرطانی صفر است و از لحاظ بیولوژیکی بسیار حائز اهمیت است؛ و نقطه تعادل سرطانی که در آن جمعیت این سلول‌ها صفر نمی‌باشد. برای بررسی پایداری نقاط تعادل از روش خطی‌سازی لیاپانوف استفاده می‌کنیم. با صفر قرار دادن طرفین معادلات (۳-۴) و (۳-۵) و قرار دادن  $y^* = 0$ ،  $y^*$  مختصات مربوط به نقطه تعادل سیستم می‌باشد، نقطه تعادل بدون تومور حاصل می‌شود. با جایگذاری نقطه تعادل در ماتریس جاکوبی حاصل از خطی‌سازی لیاپانوف، نقطه تعادل بدون تومور به دست می‌آید. تنها تفاوتی که برای به دست آوردن نقطه تعادل سرطانی وجود دارد این است که  $y^* > 0$  در نظر می‌گیریم. پایداری نقاط تعادل سرطانی، با جایگذاری در ماتریس جاکوبی و محاسبه مقادیر ویژه آن تعیین می‌شود. با یک بررسی ساده مشخص می‌شود که سیستم دارای نقطه تعادل سرطانی پایدار می‌باشد (نقطه E4 در شکل (۳-۲)). مسیر حرکت سیستم در شکل (۳-۲) به ازای مقادیر داده شده در جدول (۳-۱) نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود به ازای این مقادیر، سیستم دارای دو نقطه تعادل پایدار و دو نقطه تعادل ناپایدار می‌باشد. البته، تغییر در پارامترهای سیستم، به شدت موجب تغییر در رفتار دینامیکی سیستم می‌گردد که در بخش بعد به آن می‌پردازیم.

جدول ۳-۱- مقادیر نامی پارامترها [۲۵]

مقدار تخمینی	پارامتر
۰/۱۱۸۱	$\sigma$
۰/۳۷۴۳	$\delta$
۱/۱۳۱	$\rho$
۲۰/۱۹	$\eta$
۰/۰۰۳۱۱	$\mu$
۱/۶۳۶	$\alpha$
۰/۰۰۲	$\beta$
۰/۸	$K_x, K_y$
۰/۹	$\xi$



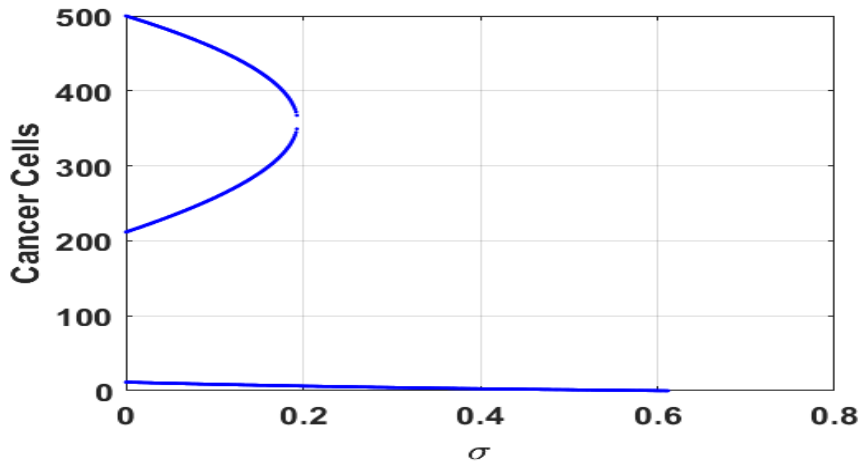
شکل ۳-۲- صفحه فاز سیستم به همراه نقاط تعادل سیستم به ازای پارامترهای داده شده در جدول ۳-۱

### ۳-۶ بررسی انشعاب<sup>۱</sup> در سیستم

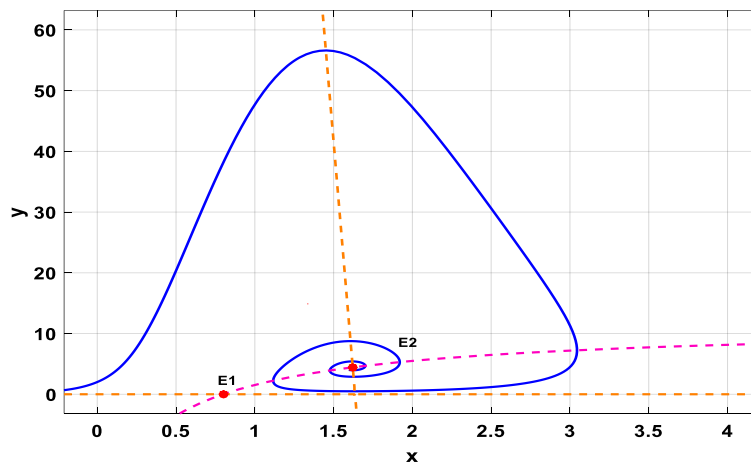
تغییر شدید در دینامیک سیستم ناشی از تغییرات کوچک در پارامترهای سیستم، انشعاب نامیده می‌شود. در این مدل به بررسی سه پارامتر مهم نرخ رشد سلول‌های ایمنی ( $\sigma$ )، نرخ مرگ سلول‌های ایمنی ( $\delta$ ) و نرخ مرگ سلول‌های ایمنی به دلیل رقابت بین سلولی ( $\mu$ ) می‌پردازیم.



نمودار تعداد نقاط تعادل سرطانی سیستم بر حسب تغییرات  $\sigma$  که به لحاظ فیزیولوژیکی قابل قبول است، در شکل (۳-۳) نشان داده شده است. تا زمانی که مقدار  $\sigma$  از  $0.2$  فراتر نرفته است، سیستم دارای سه نقطه تعادل سرطانی می‌باشد، که نمودار صفحه فاز سیستم در شکل (۲-۳) نشان داده شد. با فراتر رفتن از این مقدار، سیستم فقط یک نقطه تعادل سرطانی دارد که صفحه فاز به ازای این مقدار در شکل (۴-۳) نشان داده شده است.

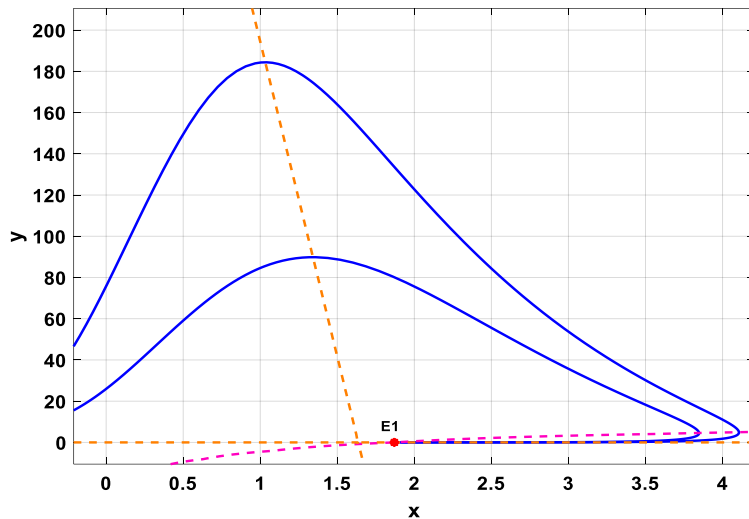


شکل ۳-۳- نقاط تعادل سرطانی سیستم به ازای پارامترهای داده شده در جدول ۳-۱، بر حسب  $\sigma$  (نمودار انشعاب بر حسب پارامتر  $\sigma$ )



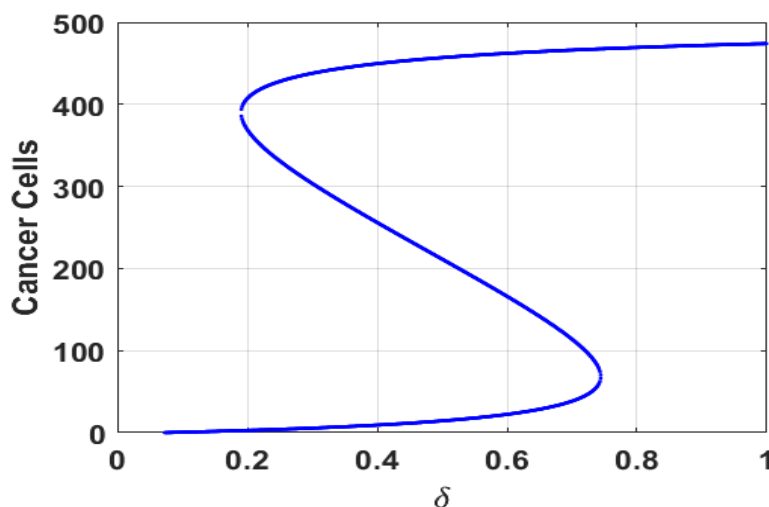
شکل ۴-۳- صفحه فاز سیستم به ازای پارامترهای داده شده در جدول ۳-۱، و  $\sigma = 0.4$

چنانچه مقدار این پارامتر از این حد نیز فراتر رود، سیستم هیچ نقطه تعادل سرطانی‌ای ندارد. به عبارت دیگر، فرد در سلامت کامل به سر می‌برد و سیستم ایمنی بدن بدون هیچ‌گونه درمان بیرونی‌ای قادر به حذف سلول‌های سرطانی است (شکل ۳-۵).



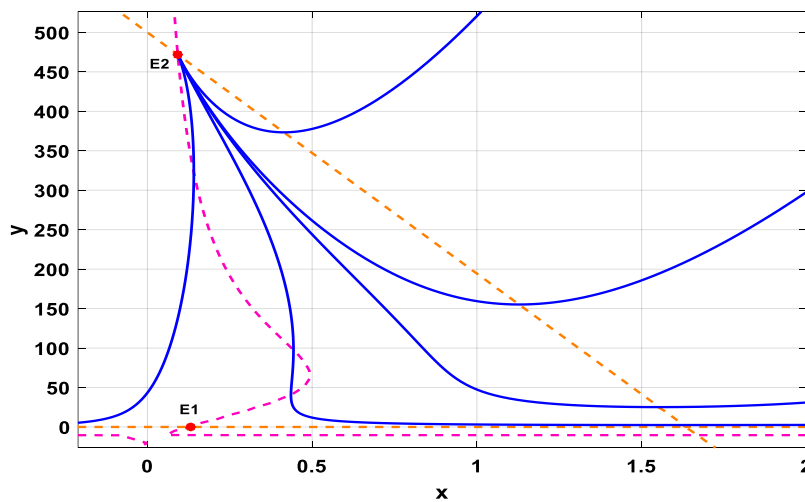
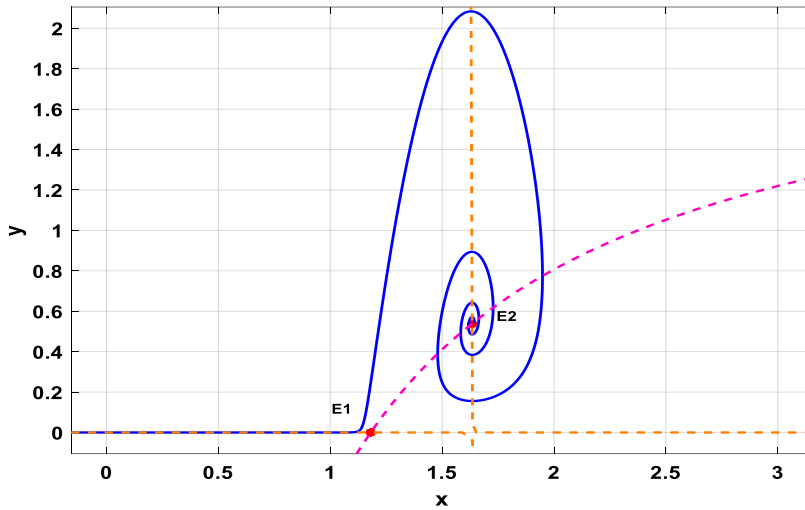
شکل ۳-۵ - صفحه فاز سیستم به ازای پارامترهای داده شده در جدول ۳-۱، و  $\sigma = 0.7$

شکل (۳-۵) نشان‌دهنده دینامیک یک فرد کاملاً سالم است که توانایی سیستم ایمنی بدن تا حدی است که هرگونه سلول سرطانی ایجاد شده در بدن را از بین می‌برد و مسیر حرکت سیستم را به سمت حالت سالم هدایت می‌کند. نمودار تعداد نقاط تعادل سرطانی سیستم بر حسب تغییرات  $\delta$  که به لحاظ فیزیولوژیکی قابل قبول است در شکل (۳-۶) نشان داده شده است.



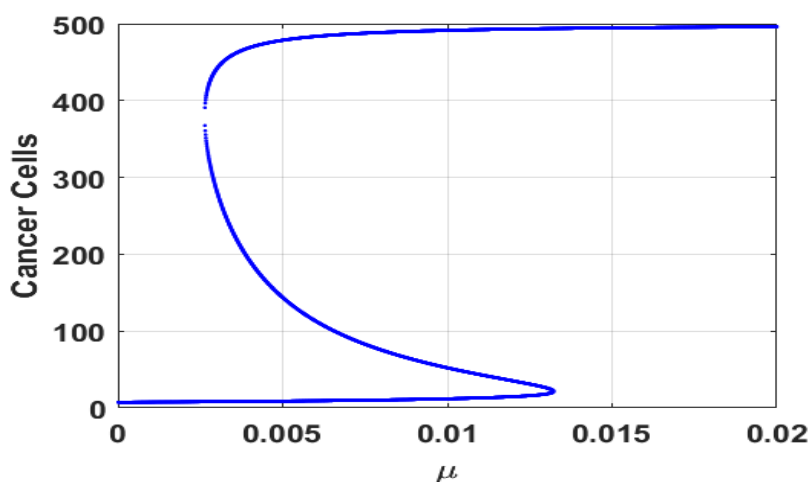
شکل ۳-۶ - نقاط تعادل سرطانی سیستم به ازای پارامترهای داده شده در جدول ۳-۱، بر حسب  $\delta$  (نمودار انشعاب بر حسب پارامتر  $\delta$ )

با قرار گرفتن  $\delta$  در بازه‌ای که در شکل مشخص است، سیستم دارای سه نقطه تعادل سرطانی است و خارج از این بازه دارای یک نقطه تعادل سرطانی است که صفحه فاز خارج از این بازه در شکل (۷-۳) نشان داده شده است.



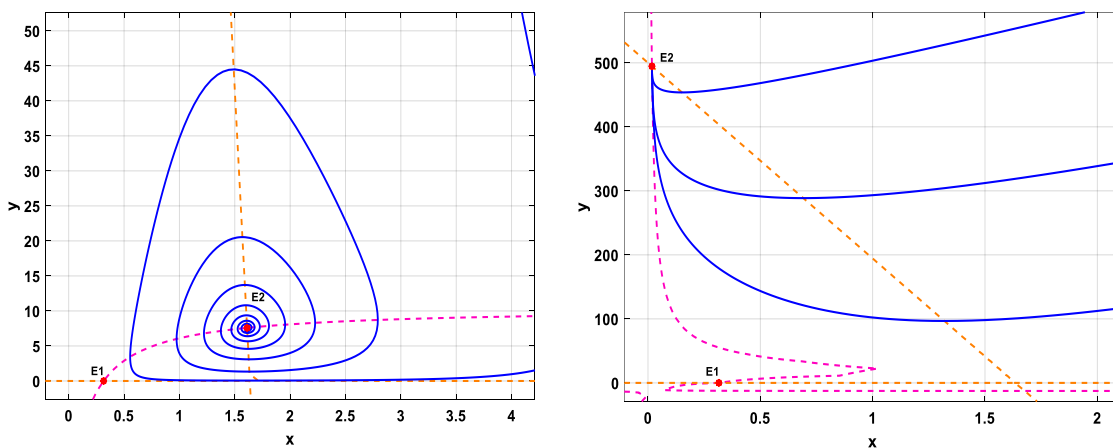
شکل ۷-۳- صفحه فاز سیستم به ازای پارامترهای داده شده در جدول ۳-۱، و  $\delta = 0.1, 0.8$

نمودار تعداد نقاط تعادل سرطانی سیستم بر حسب تغییرات  $\mu$  که به لحاظ فیزیولوژیکی قابل قبول است در شکل (۸-۳) نشان داده شده است.



شکل ۳-۸- نقاط تعادل سرطانی سیستم به ازای پارامترهای داده شده در جدول ۳-۱، بر حسب  $\mu$  (نمودار انشعاب بر حسب پارامتر  $\mu$ )

رفتار دینامیک سیستم نسبت به تغییرات  $\mu$  مشابه با پارامتر  $\delta$  است. با قرار گرفتن  $\mu$  در بازه‌ای که در شکل مشخص است، سیستم دارای سه نقطه تعادل سرطانی است و خارج از این بازه دارای یک نقطه تعادل سرطانی است که صفحه فاز خارج از این بازه در شکل (۳-۹) نشان داده شده است.



شکل ۳-۹- صفحه فاز سیستم به ازای پارامترهای داده شده در جدول ۳-۱، و  $\mu = 0.001, 0.015$

### ۷-۳ کنترل بهینه سرطان با در نظر گرفتن تغییر در دینامیک سیستم

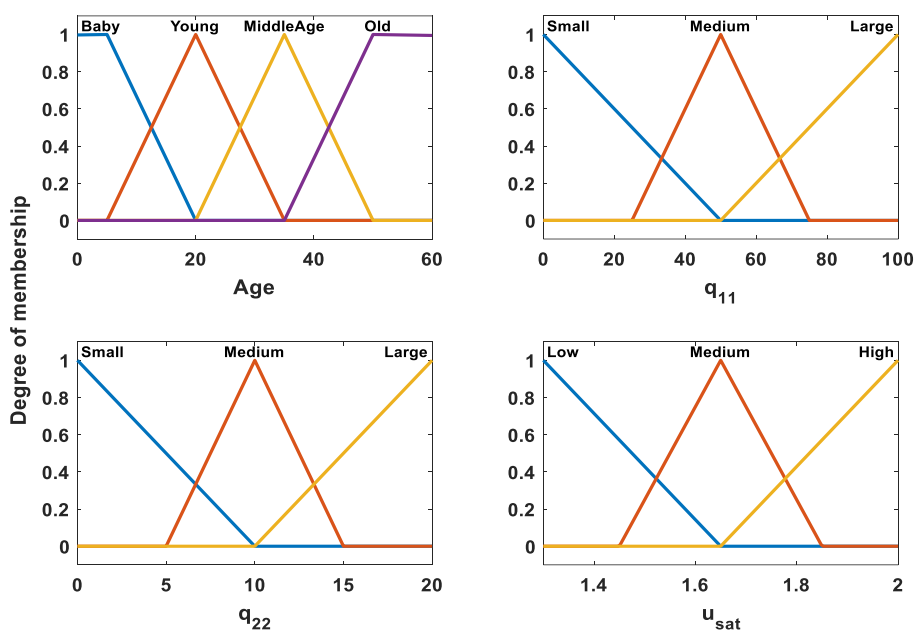
در این بخش روش کنترل بهینه SDRE برای مدل رشد تومور که در بخش قبل بررسی شد، استفاده می‌شود. برای این منظور ابتدا باید سیستم را به شکل شبه‌خطی نوشت. بنابراین سیستم معادلات با انتقال به نقطه تعادل بدون تومور مجدداً بازنویسی می‌شوند. برای این منظور تغییر متغیر را اعمال می‌کنیم. برای ماتریس‌های حالت داده شده، ضرایب  $\alpha_1$  تا  $\alpha_5$  به دست می‌آید که بهتر است به گونه‌ای انتخاب شوند تا سیستم دارای حداکثر درجه کنترل پذیری باشد. ضرایب  $\alpha_1$  تا  $\alpha_5$  برای حداکثر شدن تابع هزینه به ازای پارامترهای داده شده در جدول (۳-۱) به صورت (۳-۶) می‌باشد:

$$\begin{aligned}\alpha_1 &= 1 \\ \alpha_2 &= 1 \\ \alpha_3 &= 1 \\ \alpha_4 &= 1 \\ \alpha_5 &= 0\end{aligned}\quad (۳-۶)$$

زمانی سلول‌های سرطانی به صورت کامل از بین می‌روند که، سیستم حول نقطه تعادل بدون تومور خود پایدار شود و مسیر حرکت سیستم به سمت ناحیه جذب این نقطه هدایت شود. تابع هزینه در نظر گرفته شده در [ ] به صورتی انتخاب شده است که، علاوه بر به حداقل رساندن سلول‌های سرطانی، با تغییر پارامترهای فوق، سیستم دفاعی بدن را نیز تقویت کند. یکی از مواردی که در درمان سرطان باید به آن توجه داشت، در نظر گرفتن شرایط خاص بیمار از جمله شرایط سنی اوست. برای یک بیمار جوان می‌توان دوز داروی بیشتری را نسبت به یک بیمار کهنسال تجویز کرد، زیرا بدن یک بیمار جوان توانایی بیشتری برای بازسازی سلول‌های سالم دارد. در حالی که برای یک بیمار کهنسال باید دوز کمتری را پیشنهاد داد، زیرا بدن یک بیمار کهنسال توانایی بازسازی سلول‌های سالم را ندارد و باید تا جای امکان به حفظ سلول‌های سالم در بدن او اهتمام ورزید.  $q_{11}$  نشان دهنده اهمیت سلول‌های سالم و  $q_{22}$  نشان دهنده اهمیت سلول‌های سرطانی است. با توجه به منطق بیان شده در قبل،  $q_{11}$  برای بیمار کهنسال باید بزرگ‌تر و برای بیمار جوان  $q_{22}$  بزرگ‌تر انتخاب می‌شود. برای در نظر گرفتن این مسئله، یک سیستم فازی برای استخراج ماتریس وزنی  $Q$  و همچنین  $u_{sat}$  پیشنهاد گردیده است. توابع عضویت مربوط به سن بیمار، درایه‌های ماتریس وزنی  $Q$  و حداکثر دوز دارو در شکل (۳-۱۰) آورده شده است. قوانین فازی برای سیستم استنتاج ممدانی نیز در جدول (۳-۲) نشان داده شد است.

جدول ۳-۲- قوانین فازی

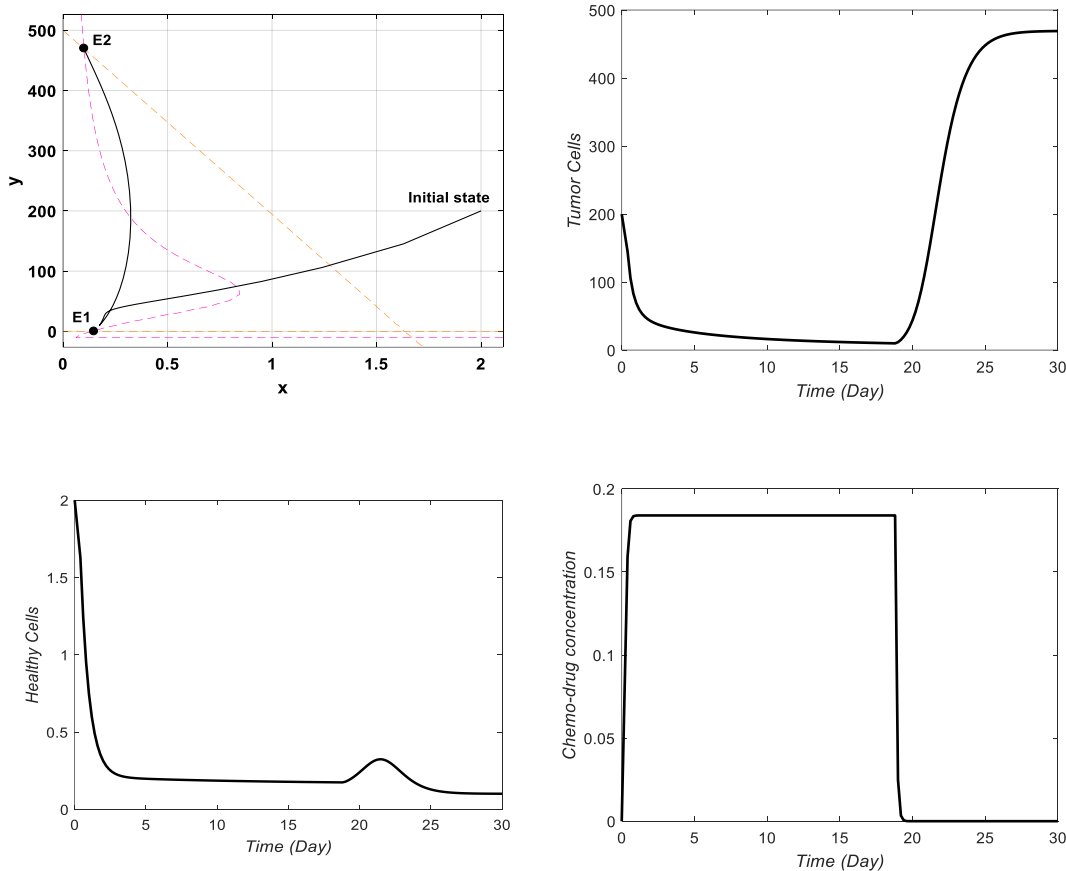
$q_{22}$	$q_{11}$	$u_{sat}$	سن
متوسط	متوسط	متوسط	کودک
بزرگ	کوچک	زیاد	جوان
متوسط	متوسط	متوسط	میانسال
کوچک	بزرگ	کم	کهنسال



شکل ۳-۱۰- توابع عضویت مربوط به سن بیمار و درایه‌های ماتریس وزنی  $Q$  و حداکثر دوز دارو

### ۳-۸ نتایج شبیه‌سازی

در این بخش به شبیه‌سازی روش درمانی ترکیبی ارائه شده می‌پردازیم. برای این منظور از ابتدای درمان، واکسن‌درمانی و شیمی‌درمانی را آغاز می‌کنیم. وظیفه واکسن‌درمانی اصلاح و بهبود دینامیک سیستم حول نقطه تعادل بدون تومور، و وظیفه شیمی‌درمانی حرکت دادن مسیر حرکت سیستم به سمت ناحیه جذب نقطه تعادل بدون تومور است. چنانچه سیستم فقط دارای یک نقطه تعادل سرطانی باشد، آن نقطه تعادل سرطانی پایدار بوده و سیستم آزاد به سمت آن نقطه حرکت می‌کند (شکل (۳-۴)، شکل (۳-۷) و شکل (۳-۹)). در شکل (۳-۱۱)، رفتار سیستم تحت شیمی‌درمانی و بدون اصلاح دینامیک سیستم نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود، با اعمال شیمی‌درمانی برای یک دوره محدود، مسیر حرکت سیستم به سمت نقطه تعادل بدون تومور E1 حرکت می‌کند؛ ولی پس از قطع شیمی‌درمانی به دلیل ناپایدار بودن نقطه تعادل بدون تومور، مسیر حرکت سیستم مجدداً به سمت نقطه تعادل سرطانی حرکت می‌کند. به عبارت دیگر، پس از قطع درمان، سرطان عود می‌کند.



شکل ۳-۱۱- مسیر حرکت سیستم و رفتار زمانی سیستم بدون اصلاح دینامیک در برابر درمان غیر ترکیبی شیمی‌درمانی

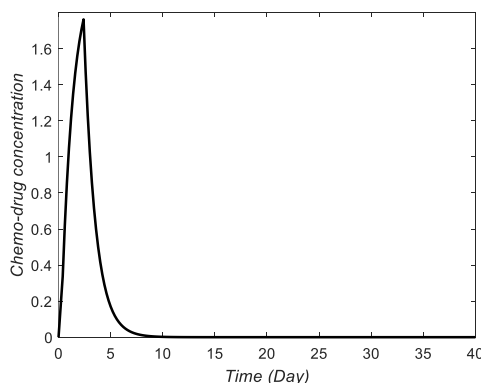
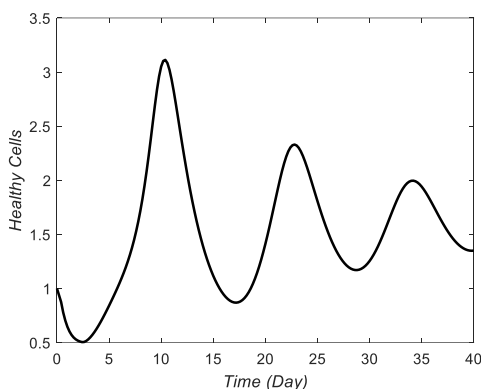
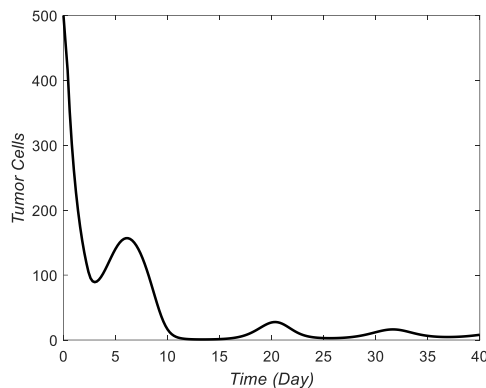
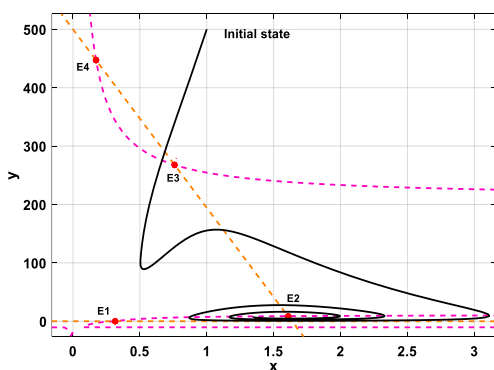
با توجه به شکل (۳-۱۱)، اصلاح دینامیک سیستم برای داشتن درمان زمان محدود ضروری می‌باشد. از این رو، برخی از ورودی‌های درمانی اعمالی به سیستم باید به اصلاح دینامیک سیستم بپردازند. به عبارت دیگر، باید برخی از ورودی‌های درمانی بر روی پارامترهای سیستم اثر ماندگار داشته باشند.

در ادامه به شبیه‌سازی روش درمانی ترکیبی ارائه شده با در نظر گرفتن سن بیمار می‌پردازیم. نتایج شبیه‌سازی را برای دو حالت بیمار جوان و بیمار کهنسال که بیماری خاص دیگری ندارند ارائه خواهیم کرد.

### ۳-۸-۱ بیمار جوان

در این حالت یک بیمار ۲۲ ساله را در نظر می‌گیریم. حال درمانی ترکیبی واکسن درمانی و شیمی‌درمانی به صورت همزمان اعمال می‌شود. سیستم فازی طراحی شده برای بیمار جوان ۲۲ ساله بیشینه دوز داروی شیمی‌درمانی را  $1/84$  و ضرایب ماتریس  $Q$  را به ترتیب  $77/98$  و  $4/404$  در نظر گرفته است. همانطور که در شکل (۳-۱۲) نشان داده شده است، واکسن درمانی باعث شده است که دینامیک سیستم اصلاح شود و نقاط تعادل دیگری در صفحه فاز سیستم وارد گردند (تبدیل دینامیک آزاد سیستم از شکل (۳-۷) به شکل (۳-۲)). همانطور که مشاهده می‌شود، نقطه تعادل بدون تومور در این حالت نیز ناپایدار است ولی نقطه تعادل پایدار دیگری وجود دارد که در آن تعداد سلول‌های سرطانی صفر نمی‌باشد، ولی تعداد سلول‌های سالم در آن قابل توجه است. در این حالت در بدن هم سلول‌های سالم و هم سلول‌های سرطانی وجود دارند؛ و با قرار گرفتن در ناحیه جذب این نقطه تعادل پایدار، رشد شدید سلول‌های سرطانی متوقف می‌شود. در این حالت وظیفه شیمی‌درمانی قرار دادن مسیر حرکت سیستم در ناحیه جذب نقطه تعادل  $E2$  می‌باشد. پس از قرار گرفتن مسیر حرکت سیستم در این ناحیه، می‌توان درمان را متوقف نمود، زیرا در این حالت سیستم آزاد و بدون ورودی جدید نسبت به قبل تغییر کرده و خودش به سمت نقطه تعادل  $E2$  به صورت نوسانی حرکت می‌کند.

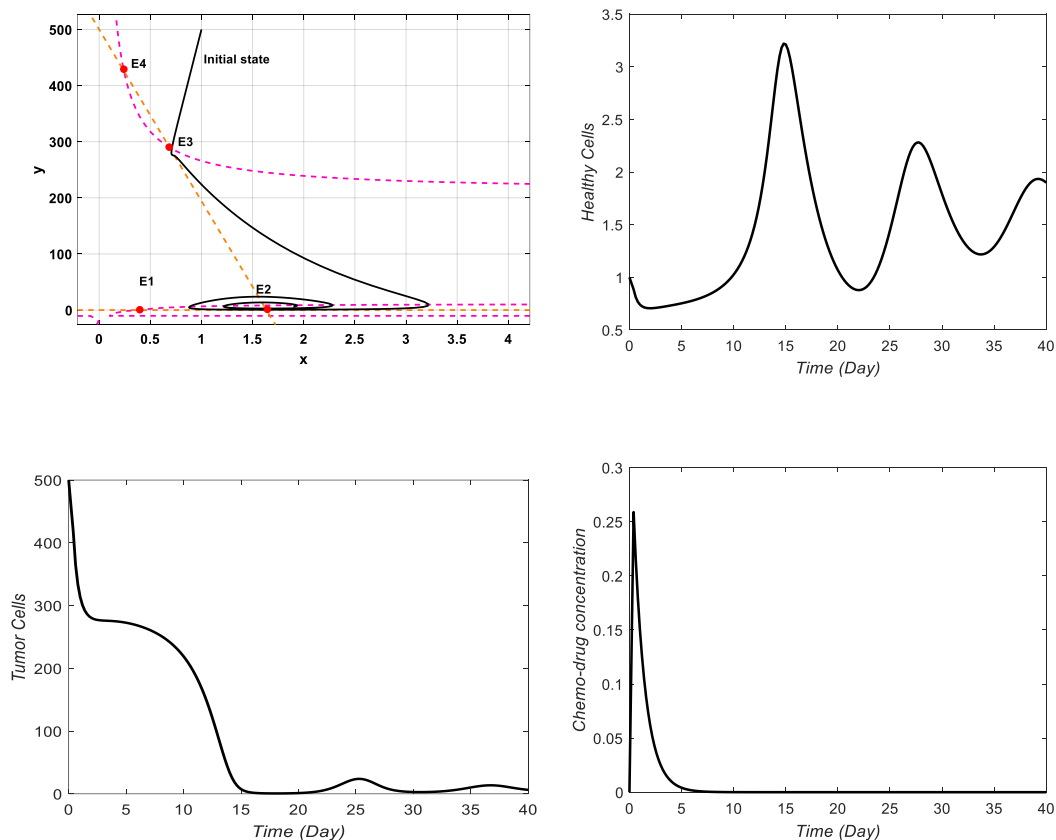




شکل ۳-۱۲- مسیر حرکت سیستم و رفتار زمانی سیستم در برابر درمان ترکیبی شیمی درمانی-ایمنی درمانی برای یک جوان ۲۲ ساله

### ۳-۸-۲ بیمار کهنسال

در این بخش یک بیمار ۶۰ ساله را در نظر می‌گیریم. در این حالت باید برای بهبود کامل بیمار همچنان پارامترهای سیستم تغییر کنند. فرض می‌کنیم که ایمنی‌درمانی سطح رشد سلول‌های سالم را به ۰/۱۵ افزایش داده باشد. بر مبنای سیستم فازی طراحی شده، بیشینه دوز داروی شیمی‌درمانی ۱/۴۱۴ و ضرایب ماتریس  $Q$  را به ترتیب ۱۶/۳۴ و ۱۶/۷۳ در نظر گرفته است. در این حالت با توجه به سطح ایمنی‌درمانی، ناحیه جذب نقطه تعادل  $E_2$  بزرگتر شده است (شکل ۳-۱۳). بنابراین، طول دوره شیمی‌درمانی کوتاه‌تر شده است. همچنین با توجه به اینکه بیمار کهنسال در نظر گرفته شده است، سطح دوز داروی شیمی‌درمانی نسبت به بیمار جوان پایین‌تر می‌باشد.

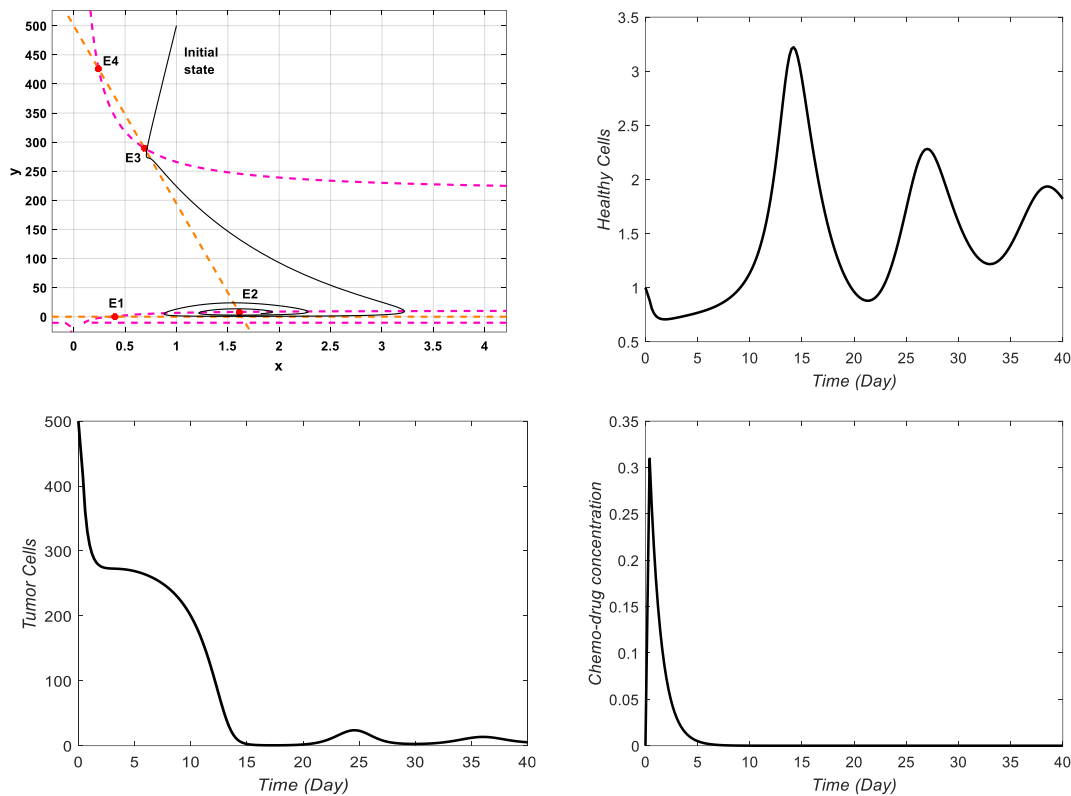


شکل ۳-۱۳- مسیر حرکت سیستم و رفتار زمانی سیستم در برابر درمان ترکیبی شیمی درمانی-ایمنی درمانی برای یک کهنسال ۶۰ ساله

### ۳-۸-۳ بیمار کودک

در این بخش یک کودک ۸ ساله را در نظر می‌گیریم. در این حالت باید برای بهبود کامل بیمار همچنان پارامترهای سیستم تغییر کنند. فرض می‌کنیم که ایمنی درمانی سطح رشد سلول‌های سالم را به ۰/۱۵ افزایش داده باشد. بر مبنای سیستم فازی طراحی شده، بیشینه دوز داروی شیمی‌درمانی ۱/۶۹ و ضرایب ماتریس  $Q$  را به ترتیب ۳۹/۰۶ و ۶/۶۱ در نظر گرفته است. در این حالت با توجه به سطح ایمنی درمانی، ناحیه جذب نقطه تعادل  $E_2$  بزرگتر شده است (شکل ۳-۱۴). بنابراین، طول دوره شیمی‌درمانی کوتاه‌تر شده است. همچنین با توجه به اینکه بیمار کودک در نظر گرفته شده است، سطح دوز داروی شیمی‌درمانی نسبت به بیمار جوان پایین‌تر و از بیمار کهنسال بیشتر است.

همانطور که مشاهده می‌شود، فاز اول درمان به خوبی انجام پذیرفته است و مسیر حرکت سیستم از به داخل ناحیه جذب نقطه تعادل  $E_2$  هدایت شده است.



شکل ۳-۱۴- مسیر حرکت سیستم و رفتار زمانی سیستم در برابر درمان ترکیبی شیمی درمانی-ایمنی درمانی برای یک کودک ۸ ساله

### ۳-۹ کنترل مدار بسته و انتخاب حسگر مناسب

هدف سیستم‌های حلقه بسته، رسیدن به خروجی مطلوب، آن هم به صورت خودکار و ماندن در آن شرایط از طریق مقایسه با خروجی واقعی است. این کار، با تولید سیگنال خطا انجام می‌شود که اختلاف بین خروجی و ورودی مرجع است. در یک سیستم حلقه بسته، از کنترل کننده برای مقایسه خروجی واقعی سیستم و مقدار مطلوب آن و تبدیل خطا به یک عمل کنترل مناسب، استفاده می‌شود.

مهم‌ترین ویژگی‌های کنترل حلقه بسته به شرح زیر است:

- کاهش خطا با تنظیم خودکار ورودی سیستم تحت کنترل
- بهبود پایداری سیستم ناپایدار

- افزایش یا کاهش حساسیت سیستم
- افزایش قوام در برابر اغتشاش‌های خارجی
- عملکرد قابل اطمینان و قابل تکرار

با توجه به این ویژگی‌ها، چون سیستم کنترل مدار بسته تمام این نیازها را برطرف می‌کند. از کنترل‌کننده‌های مدار بسته استفاده می‌شود.

# فصل چهارم: مدل سازی ریاضی حکم‌زیتی

#### ۴-۱ دیدگاه چندآنزیمی

در دیدگاه چندآنزیمی، یک زیست‌حسگر به عنوان یک الکتروود در نظر گرفته می‌شود که شامل چندین لایه است و هر لایه حاوی یک آنزیم می‌باشد که این لایه‌ها مانند ساندویچ روی هم قرار گرفته‌اند.

دلایل مختلفی برای به‌کارگیری دیدگاه چندلایه به منظور مدل‌سازی زیست‌حسگرها وجود دارد. از مدل‌های چندلایه معمولاً در موارد زیر استفاده می‌شود:

- وقتی که محلول اصلی<sup>۱</sup> به صورت جزئی مخلوط شده باشد و یا اینکه اصلاً هم‌زده نشده باشد.
- وقتی لایه آنزیمی با یک غشای بیرونی بی‌اثر پوشانده شده باشد. این پوشش، لایه‌ی آنزیمی را تثبیت کرده و یک محدودیت نفوذ برای زیرلایه ایجاد خواهد کرد. در واقع کاهش غلظت زیرلایه در لایه‌ی آنزیمی سبب افزایش زمان پاسخ در منحنی کالیبراسیون زیست‌حسگر خواهد شد.
- این دیدگاه برای طراحی زیست‌حسگرها برای اهداف متفاوت، به نسبت سریع و ارزان قیمت است.

#### ۴-۲ مدل دوبخشی

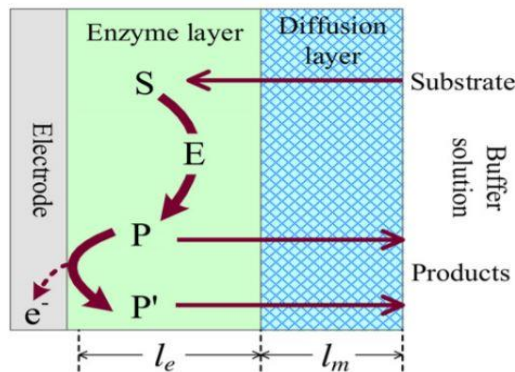
در مدل‌های دوبخشی، محلول اصلی معمولاً به عنوان لایه‌ی دوم در نظر گرفته می‌شود و به همین دلیل این مدل‌ها نیز به نوعی، زیرمجموعه‌ی مدل‌های چندلایه تلقی می‌شوند. اگر مخلوط کردن محلول اصلی به خوبی صورت گیرد و ضخامت لایه‌ی آنزیمی ثابت باقی بماند، می‌توان از مدل تک لایه استفاده نمود. غلظت زیرلایه و محصول، روی سطح آنزیم زمانی که زیست‌حسگر با زیرلایه در تماس است، ثابت باقی می‌ماند، اما اگر مخلوط شدن محلول اصلی ضعیف باشد یا این که محلول اصلاً مخلوط نشود، غلظت زیرلایه و محصول در طول سطح آنزیم به نفوذ اجزای مختلف موجود در محلول بستگی دارد. از این‌رو برای مدل‌سازی این مدل را شامل سه منطقه‌ی لایه‌ی آنزیمی که در آن واکنش آنزیمی و همچنین انتقال جرم از طریق نفوذ اتفاق می‌افتد. منطقه دو که محدودکننده‌ی نفوذ است و در آن فقط انتقال جرم از طریق نفوذ جریان دارد. و در منطقه سه غلظت ماده مورد تجزیه ثابت نگه داشته می‌شود [۳۰].

---

<sup>۱</sup> Bulk Solution

### ۳-۴ ساختار اصلی زیست حسگر

برای مدل سازی یک زیست حسگر آمپرومتری، آن را به عنوان یک الکتروود که لایه نازکی از یک آنزیم روی سطح آن قرار داده شده است، در نظر می گیریم [۳۰].  
 نمای شماتیکی از زیست حسگر مدل شده در شکل (۱-۴) ارائه شده است،  $l_m$  و  $l_e$  به ترتیب ضخامت لایه آنزیم و غشا خارجی را نشان می دهند.



شکل ۱-۴- نمایش شماتیک زیست حسگر آمپرومتری

با توجه به طرح (۱-۴) زیرلایه (S) برای تشکیل ترکیب (ES) به طور معکوس با آنزیم (E) ترکیب می شود. سپس ترکیب به محصول (P) تجزیه شده و آنزیم احیا می شود.



### ۴-۴ مدل ریاضی زیست حسگر آمپرومتری

با فرض هندسه متقارن برای الکتروود و نیز توزیع همگن آنزیم روی غشای آنزیمی، تغییرات غلظت زیرلایه و محصول در لایه ی آنزیمی می تواند توسط سیستم غیرخطی واکنش\_نفوذ ذیل توضیح داده شود [۳۰].

$$\frac{\partial s_e}{\partial t} = d_{s_e} \frac{\partial^2 s_e}{\partial x^2} - \frac{v_{max} s_e}{k_M + s_e} \quad (۲-۴)$$

$$\frac{\partial p_e}{\partial t} = d_{p_e} \frac{\partial^2 p_e}{\partial x^2} + \frac{v_{max} s_e}{k_M + s_e} \quad x \in (0, l_e) \quad (۳-۴)$$

که  $x$  و  $t$  به ترتیب مکان و زمان را نشان می دهند،  $s_e(x, t)$  و  $p_e(x, t)$  به ترتیب غلظت های زیرلایه و محصول، در لایه آنزیم هستند.  $l_e$  ضخامت غشا آنزیم است.  $d_{p_e}$  و  $d_{s_e}$  ضرایب نفوذ

آنزیم و محصول هستند.  $v_{max}$  حداکثر سرعت آنزیم است که به صورت  $v_{max} = k_2 e_0$  بیان می‌شود،  $e_0$  غلظت آنزیم است. و  $k_M$  ثابت میکائلیس منتن است که از رابطه  $k_M = (k_{-1} + k_2)/k_1$  بدست می‌آید. در منطقه دوم فقط انتقال جرم از طریق نفوذ اتفاق می‌افتد [۳۱].

$$\frac{\partial s_m}{\partial t} = d_{s_m} \frac{\partial^2 s_m}{\partial x^2} \quad (۴-۴)$$

$$\frac{\partial p_m}{\partial t} = d_{p_m} \frac{\partial^2 p_m}{\partial x^2} \quad x \in (l_e, l_e + l_m) \quad (۵-۴)$$

و  $s_m(x, t)$  و  $p_m(x, t)$  به ترتیب غلظت‌های زیرلایه و محصول واکنش در لایه نفوذ،  $d_{s_m}$  و  $d_{p_m}$  ضرایب نفوذ اجزا در محلول اصلی هستند.  $x = 0$  نشان‌دهنده‌ی سطح الکتروود و  $x = l_e$  نشان‌دهنده‌ی سطح تماس غشای آنزیمی و محلول اصلی است [۳۲].

#### ۴-۴-۱ شرایط مرزی و اولیه

عملکرد زیست‌حسگر زمانی آغاز می‌شود که مقداری زیرلایه در محلول اصلی ظاهر شود. ( $t = 0$ ). غلظت زیرلایه در محلول اصلی با  $s_0$  تعریف شده است. این روابط نشان می‌دهند که فعالیت زیست‌حسگر وقتی زیرلایه با غلظت  $s_0$  در تماس با دورترین لایه آنزیمی نسبت به مبدا قرار می‌گیرد، آغاز می‌شود و در نتیجه زیرلایه وارد لایه نفوذ می‌گردد.

$$s_e(x, 0) = 0 \quad p_e(x, 0) = 0 \quad x \in [0, l_e] \quad (۶-۴)$$

$$s_m(x, 0) = 0 \quad p_m(x, 0) = 0 \quad x \in [l_e, l_e + l_m] \quad (۷-۴)$$

$$s_m(l_e + l_m, 0) = s_0 \quad p_m(l_e + l_m, 0) = 0 \quad (۸-۴)$$

در سطح الکتروود و با توجه به روش آمپرومتری، پتانسیل طوری انتخاب می‌شود تا غلظت محصول واکنش صفر باشد.

$$p_e(0, t) = 0 \quad d_{s_e} \frac{\partial s_e}{\partial x} \Big|_{x=0} = 0 \quad t > 0 \quad (۹-۴)$$

ضخامت  $l_m$  (لایه نفوذ خارجی) با گذشت زمان تغییر نمی‌کند. و در خارج از آن غلظت زیرلایه نیز مانند محصول ثابت است ( $t > 0$ ).

$$s_m(l_e + l_m, t) = s_0 \quad p_m(l_e + l_m, t) = 0 \quad (۱۰-۴)$$



در مرز بین دو منطقه که ضرایب نفوذ مختلفی دارند (مرز  $l_e$  و  $l_m$ )، شرایط ارتباط‌دهنده به صورت زیر تعریف می‌شوند ( $t > 0$ ).

$$d_{s_e} \frac{\partial s_e}{\partial x} \Big|_{x=l_e} = d_{s_m} \frac{\partial s_m}{\partial x} \Big|_{x=l_e} \quad s_e(l_e \cdot t) = s_m(l_e \cdot t) \quad (11-4)$$

$$d_{p_e} \frac{\partial p_e}{\partial x} \Big|_{x=l_e} = d_{p_m} \frac{\partial p_m}{\partial x} \Big|_{x=l_e} \quad p_e(l_e \cdot t) = p_m(l_e \cdot t) \quad (12-4)$$

#### ۴-۵ خصوصیات واکنش زیست‌حسگر

##### ۴-۵-۱ جریان زیست‌حسگر

چگالی جریان زیست‌حسگر  $i(t)$  در زمان  $t$  می‌تواند مستقیماً با استفاده از قوانین فارادی و فیک به دست آید [۳۳، ۴۰].

$$i(t) = n_e F d_{p_e} \frac{\partial p_e}{\partial x} \Big|_{x=0} \quad i_{ss} = \lim_{t \rightarrow \infty} i(t) \quad (13-4)$$

تعداد الکترون‌هایی که در انتقال شار از سطح الکتروود شرکت داشته‌اند با  $n_e$  نشان داده شده است. و  $F$  ثابت فارادی است.  $i_{ss}$  چگالی جریان زیست‌حسگر در حالت پایدار است.

##### ۴-۵-۲ حساسیت زیست‌حسگر

چندین ویژگی مهم در پاسخ زیست‌حسگرها وجود دارد، حساسیت یکی از مهمترین آن‌هاست.

حساسیت زیست‌حسگر معمولاً به عنوان شیب جریان حالت پایدار به غلظت زیرلایه تعیین می‌شود.

حساسیت  $B_s$  نسبت به غلظت زیرلایه ( $s_0$ ) به شرح زیر تعریف می‌شود:

$$B_s(s_0) = \frac{di_{ss}(s_0)}{ds_0} \times \frac{s_0}{i_{ss}(s_0)} \quad (14-4)$$

$i_{ss}(s_0)$  چگالی جریان زیست‌حسگر در حالت پایدار است.  $B_s$  بین ۰ و ۱ نوسان می‌کند.

##### ۴-۵-۳ ثابت میکائلیس منتن

به عنوان منحنی کالیبراسیون برای سنجش حسگرهای آمپرومتری در نظر گرفته می‌شود [۴۳]. فرض بر این است که  $k_M^{app}$  غلظت زیرلایه‌ای است، که در آن پاسخ زیست‌حسگر به نیمی از حداکثر پاسخ خود می‌رسد که غلظت زیرلایه در آن، تا بی‌نهایت ثابت می‌ماند و

پارامترهای دیگر مدل را ثابت نگه می‌دارد [۴۲، ۴۵].

$$k_M^{app} = \{s_0^* : i_{ss}(s_0^*) = 0.5 \lim_{s_0 \rightarrow \infty} i_{ss}(s_0)\} \quad (۱۵-۴)$$

به عنوان نیمه حداکثر غلظت موثر زیرلایه شناخته می‌شود.

#### ۴-۵-۴ زمان واکنش

$t_{0.5}$ ، نیمی از لحظه وقوع جریان پایدار است. در واقع  $t_{0.5}$  زمان مورد نیاز برای رسیدن به ۵۰ درصد جریان حالت پایدار است [۴۶].

$$t_{0.5} = \{t : i(t) = 0.5i_{ss}\} \quad (۱۶-۴)$$

#### ۴-۶ بی بعد کردن مدل

به منظور استخراج پارامترهای اصلی حاکم بر مدل ریاضی، می‌توان تعدادی از پارامترهای مدل را کاهش داد. مدل دو بخشی (۲-۴) تا (۱۲-۴) برای صرفه‌جویی در زمان، مکان، غلظت‌ها و ضرایب انتشار به شکل بدون بعد بیان می‌شود [۴۷].

$$X = \frac{x}{l_e} \quad T = \frac{d_{se}t}{l_e^2} \quad L_m = \frac{l_m}{l_e} \quad T_{0.5} = \frac{d_{se}t_{0.5}}{l_e^2} \quad K_M^{app} = \frac{k_M^{app}}{k_M} \quad (۱۷-۴)$$

$$S_e = \frac{s_e}{k_M} \quad P_e = \frac{p_e}{k_M} \quad S_m = \frac{s_m}{k_M} \quad P_m = \frac{p_m}{k_M} \quad S_0 = \frac{s_0}{k_M} \quad (۱۸-۴)$$

$$D_{p_e} = \frac{d_{p_e}}{d_{s_e}} \quad D_{s_m} = \frac{d_{s_m}}{d_{s_e}} \quad D_{p_m} = \frac{d_{p_m}}{d_{s_e}} \quad \sigma^2 = \frac{v_{max}l_e^2}{k_M d_{s_e}} \quad (۱۹-۴)$$

ضریب نفوذ  $\sigma^2$  سرعت واکنش آنزیم را با انتقال ماده در سراسر لایه‌ی آنزیمی  $\frac{l_e^2}{d_{s_e}}$  می‌سنجد. اگر  $\sigma^2 \ll 1$  باشد، سینماتیک آنزیم، پاسخ زیست‌حسگر را کنترل می‌کند. اگر  $\sigma^2 \gg 1$  باشد پاسخ تحت کنترل نفوذ است.

معادله‌های رابطه (۲-۴) و (۳-۴) به صورت رابطه (۲۰-۴) و (۲۱-۴) بیان می‌شوند:

$$\frac{\partial S_e}{\partial T} = \frac{\partial^2 S_e}{\partial X^2} - \sigma^2 \frac{S_e}{1 + S_e} \quad (۲۰-۴)$$

$$\frac{\partial P_e}{\partial t} = D_{p_e} \frac{\partial^2 P_e}{\partial X^2} + \sigma^2 \frac{S_e}{1 + S_e} \quad X \in (0, 1) \quad T > 0 \quad (21-4)$$

معادله‌های رابطه (4-4) و (5-4) نیز با معادله‌های رابطه (22-4) و (23-4) جایگزین می‌شوند:

$$\frac{\partial S_m}{\partial T} = D_{s_m} \frac{\partial^2 S_m}{\partial X^2} \quad (22-4)$$

$$\frac{\partial P_m}{\partial T} = D_{p_m} \frac{\partial^2 P_m}{\partial X^2} \quad X \in (1, 1 + L_m) \quad T > 0 \quad (23-4)$$

شرایط اولیه (4-6) تا (4-8) به شرایط ذیل تبدیل می‌شوند [43]:

$$S_e(X, 0) = 0 \quad P_e(X, 0) = 0 \quad X \in [0, 1] \quad (24-4)$$

$$S_m(X, 0) = 0 \quad P_m(X, 0) = 0 \quad X \in [1, 1 + l_m] \quad (25-4)$$

$$S_m(1 + l_m, 0) = S_0 \quad P_m(1 + l_m, 0) = 0 \quad (26-4)$$

شرایط مرزی (4-9)، (4-10)، (4-11) و (4-12) به شرح زیر بازنویسی می‌شوند ( $T > 0$ ):

$$P_e(0, T) = 0 \quad \left. \frac{\partial S_e}{\partial X} \right|_{X=0} = 0 \quad (27-4)$$

$$S_m(1 + l_m, T) = S_0 \quad P_m(1 + l_m, T) = 0 \quad (28-4)$$

$$\left. \frac{\partial S_e}{\partial X} \right|_{X=1} = D_{s_m} \left. \frac{\partial S_m}{\partial X} \right|_{X=1} \quad S_e(1, T) = S_m(1, T) \quad (29-4)$$

$$\left. \frac{\partial P_e}{\partial x} \right|_{X=1} = \left. \frac{\partial P_m}{\partial X} \right|_{X=1} \quad P_e(1, T) = P_m(1, T) \quad (30-4)$$

جریان بدون بعد  $I$  و جریان پایدار بی‌بعد  $I_{ss}$  به شرح زیر است:

$$I(T) = D_{p_e} \left. \frac{\partial P_e}{\partial X} \right|_{X=0} = \frac{i(t)l_e}{n_e F d_{s_e} k_M} \quad I_{ss} = \lim_{T \rightarrow \infty} I(T) \quad (31-4)$$

## ۷-۴ مدل حل

به دلیل غیرخطی بودن معادلات حاکم، برای بسیاری از مسائل واکنش\_نفوذ، راه‌حل‌های دقیق غیرممکن است. همچنین مشکل شرایط مرزی اولیه برای مقادیر خاصی از پارامترهای مدل مسئله به وجود می‌آید که می‌توانیم مسئله را به صورت تحلیلی حل کنیم. روش تفاضل متناهی، متداول‌ترین روش عددی مورد استفاده برای حل مسائل واکنش\_نفوذ است [۴۷]. به این منظور، یک شبکه گسسته غیریکنواخت در مکان و زمان معرفی شد. برای به دست آوردن نتیجه دقیق و پایدار، لازم بود از یک اندازه پله کوچک در جهت  $x$  در مرزهای  $x = 0$  و  $x = l_e$  و  $x = l_e + l_m$  استفاده شود. از آنجا که عملکرد زیست‌حسگر از فرض حالت پایدار در زمان  $(t \rightarrow \infty)$  اطاعت می‌کند، منطقی بود که اندازه گام‌ها را در جهت زمان افزایش دهیم. شبیه ساز دیجیتال به زبان MATLAB برنامه‌نویسی شده است [۴۸].

در غلظت‌های بسیار کم زیرلایه  $s_0 \ll k_M$ ، سرعت واکنش غیرخطی در رابطه (۲-۴) به  $\frac{v_{max} s_e}{k_M}$  کاهش می‌یابد. چگالی جریان حالت پایدار به صورت رابطه زیر تعریف می‌شود.

$$i_{ss} = n_e F s_0 \frac{d_{p_e}}{l_e + l_m} \left( l_e + l_m \frac{d_{s_m} - \frac{\sigma d_{s_e} \sinh(\sigma)}{\cosh(\sigma)}}{\sigma \left(\frac{l_m}{l_e}\right) d_{s_e} \sinh(\sigma) + d_{s_m} + \frac{\sigma d_{s_e} \sinh(\sigma)}{\cosh(\sigma)}} \right) \quad (۳۲-۴)$$

$$\times \frac{\frac{\sigma \left(\frac{l_m}{l_e}\right) d_{s_e} \sinh(\sigma)}{\cosh(\sigma)} + \frac{d_{s_e} d_{p_m}}{d_{p_e}} \left(1 - \frac{1}{\cosh(\sigma)}\right)}{d_{p_m} l_e + d_{p_e} l_m} \quad s_0 \ll k_M$$

هنگامی که غلظت  $s_0$  زیرلایه اندازه‌گیری شده در مقایسه با ثابت میکائلیس متن خیلی بزرگ باشد  $(s_0 \gg k_M)$ ، رابطه (۲-۴) به  $v_{max}$  کاهش می‌یابد [۴۹]. با فرض  $s_0 \gg k_M$  مشکل مقدار شرایط اولیه و مرزی (۲-۴) تا (۱۲-۴) به راحتی قابل حل است.

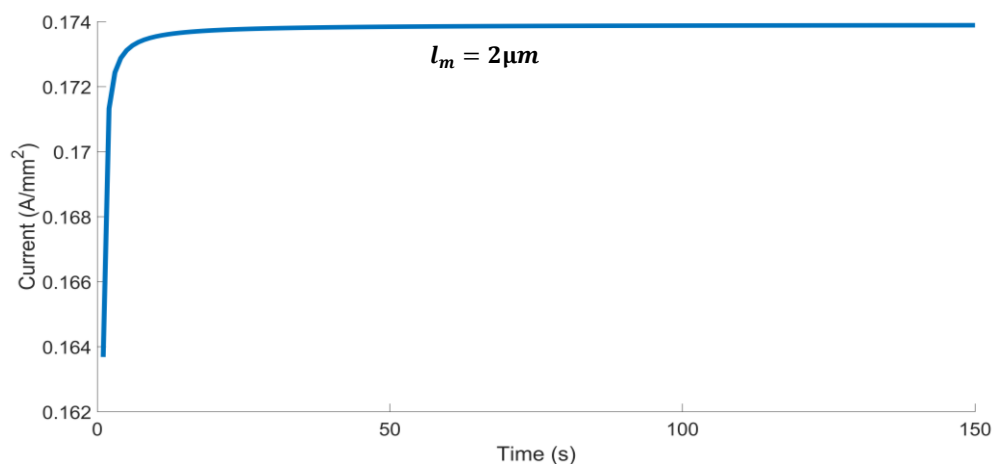
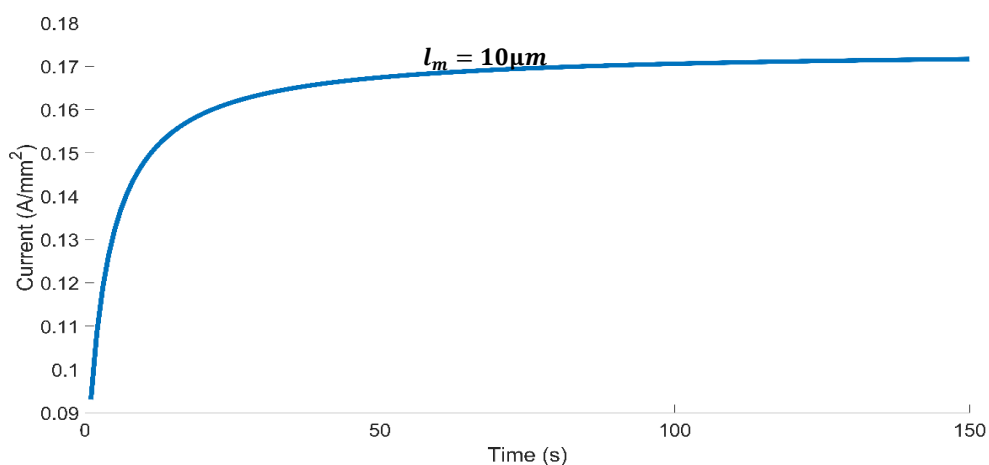
$$i_{ss} = n_e F \frac{v_{max} l_e (d_{p_m} l_e + 2d_{p_e} l_m)}{2 (d_{p_m} l_e + d_{p_e} l_m)} \quad s_0 \gg k_M \quad (۳۳-۴)$$

با توجه به رابطه (۳۳-۴) چون پاسخ زیست‌حسگر برای غلظت‌های متفاوت  $s_0$ ، ثابت است پس حسگرهای آنزیمی برای  $(s_0 \gg k_M)$  مناسب نیستند. در تمام آزمایشات عددی مقادیر زیر ثابت نگه داشته شده‌اند.

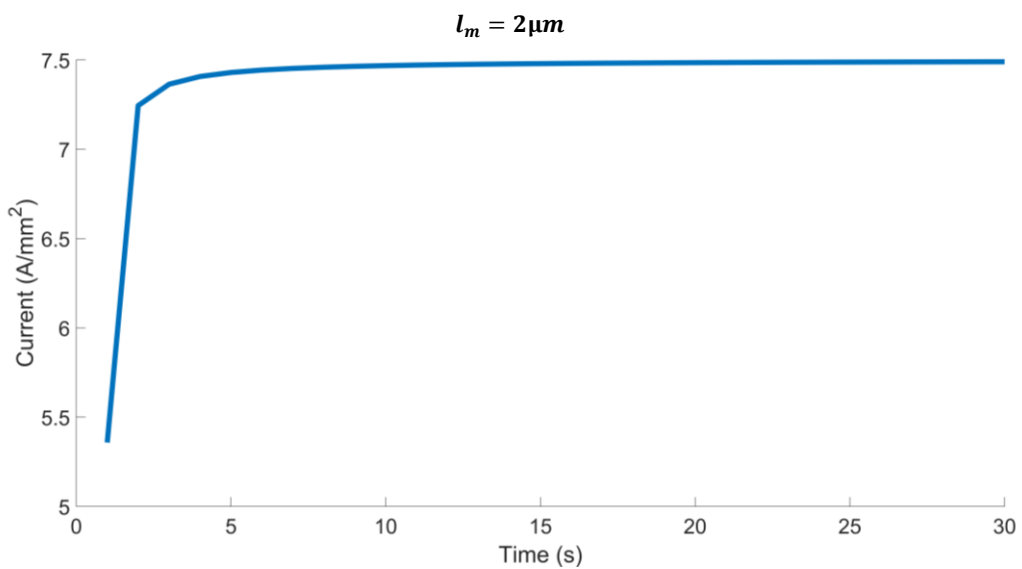
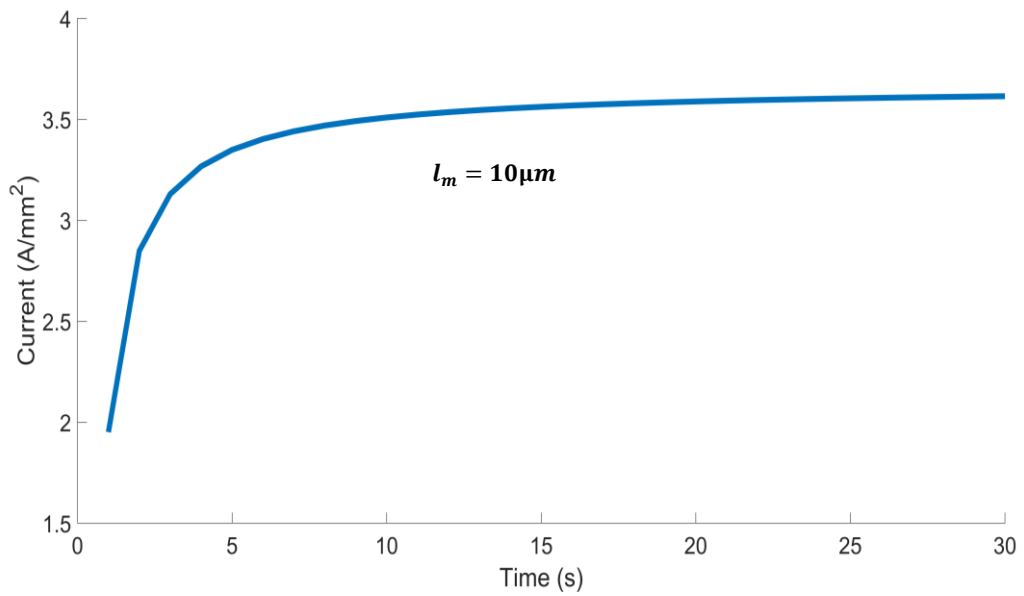
$$d_{s_e} = d_{p_e} = 300\mu\text{m}^2/\text{s} \quad d_{s_m} = d_{p_m} = 45\mu\text{m}^2/\text{s} \quad (34-4)$$

$$K_M = 20\text{mM} \quad n_e = 1 \quad l_e = 10\mu\text{m} \quad (35-4)$$

شکل (۲-۴) جریان حالت زمانی زیست‌حسگر به ازای دو مقدار ضخامت لایه نفوذ ( $l_m = 2, 10\mu\text{m}$ ) رسم شده‌اند [۵۱]. دینامیک واکنش زیست‌حسگر به طرز چشم‌گیری به میزان حداکثر سرعت آنزیم  $v_{max}$  و همچنین ضخامت غشای خارجی (لایه نفوذ)،  $l_m$  بستگی دارد. کاهش  $v_{max}$  و افزایش  $l_m$  باعث افزایش زمان پاسخ زیست‌حسگر و همچنین خروجی جریان نیز می‌شود. همانطور که در شکل (۲-۴-الف) مشاهده می‌شود با کوچک شدن  $v_{max}$  زمان پاسخ زیست‌حسگر نسبت به شکل (۲-۴-ب) بیشتر است.



شکل ۲-۴-الف) نمایش خروجی جریان بر حسب زمان در ( $v_{max} = 0.6 \frac{\mu\text{mol}}{\text{s}}$ ) و ( $s_0 = 0.5K_M$ )



شکل ۴-۲-ب) نمایش خروجی جریان بر حسب زمان در ( $v_{max} = 60 \frac{\mu mol}{s}$ ) و ( $S_0 = 0.5K_M$ )

برای لایه‌های نفوذ بزرگ‌تر، جریان خروجی  $i(t)$  کمتر است. به عنوان مثال در شکل (۴-۲-ب) خروجی جریان به ازای  $l_m = 10\mu m$  کمتر از خروجی به ازای  $l_m = 2\mu m$  است

#### ۴-۸ بحث و نتایج

به منظور بررسی اثرات جابجایی جرم داخلی و خارجی از طریق انتشار، بر پاسخ و همچنین بر حساسیت زیست‌حسگرهای آمپرومتری تک لایه، عملکرد زیست‌حسگر برای مقادیر مختلف پارامترهای مدل از نظر تحلیل و عددی محاسبه شد [۴۷، ۵۱].

#### ۴-۸-۱ تاثیر جریان حالت پایدار

معادله (۴-۳۲) خیلی پیچیده است پس با استفاده از روش بی‌بعد معادله را ساده می‌کنیم. در این معادله فقط  $\sigma$  بی‌بعد است. یکی دیگر از پارامترهای بدون بعد  $\beta$  است که فاصله جابجایی نسبی داخلی و خارجی را مقایسه می‌کند. از آنجا که ظرفیت جابجایی جرم برای زیرلایه و محصول متفاوت است پس ما دو عدد بایوت<sup>۱</sup> (عددی بدون بعد است که در محاسبات انتقال حرارت گذرا به کار می‌رود) معرفی می‌کنیم [۵۲].

$$\beta_s = \frac{d_{sm}/l_m}{d_{se}/l_e} = \frac{d_{sm}l_e}{d_{se}l_m} \quad \beta_p = \frac{d_{pm}/l_m}{d_{pe}/l_e} = \frac{d_{pm}l_e}{d_{pe}l_m} \quad (۴-۳۶)$$

$\beta_p$  و  $\beta_s$  به ترتیب عدد بایوت برای زیرلایه و محصول است. مقادیر بالا عدد بایوت، حاکی از این است که نفوذ داخلی در مقایسه با نفوذ خارجی بسیار کندتر است.

با در نظر گرفتن تعریف (۴-۳۶)، فرمول چگالی جریان حالت پایدار (۴-۳۲)، به صورت رابطه ذیل کاهش می‌یابد [۵۳].

$$i_{ss} = n_e F s_0 \frac{d_{se}}{l_e} \times \frac{\sigma \sinh(\sigma) + \beta_p \cosh(\sigma) - \beta_p}{\sigma \sinh(\sigma) + \beta_s \cosh(\sigma)} \times \frac{\beta_s}{\beta_p + 1} \quad s_0 \ll k_M \quad (۴-۳۷)$$

فرمول (۴-۳۳) که برای غلظت‌های بالا زیرلایه استفاده می‌شود نیز، به صورت رابطه (۴-۳۸) کاهش می‌یابد.

$$i_{ss} = n_e F \frac{v_{max} l_e (\beta_p + 2)}{2 (\beta_p + 1)} \quad s_0 \gg k_M \quad (۴-۳۸)$$

<sup>۱</sup> Biot Numbers

برای غلظت‌های کم زیرلایه، جریان بدون بعد حالت پایدار  $I_{ss}$  می‌تواند به صورت زیر بیان شود.

$$I_{ss} = S_0 \left( \frac{\sigma \sinh(\sigma) + \beta_p \cosh(\sigma) - \beta_p}{\sigma \sinh(\sigma) + \beta_s \cosh(\sigma)} \right) \frac{\beta_s}{\beta_p + 1} \quad S_0 \ll 1 \quad (39-4)$$

رابطه (38-4) نیز به صورت زیر ساده‌سازی می‌شود.

$$I_{ss} = \frac{\sigma^2 (\beta_p + 2)}{2 (\beta_p + 1)} \quad S_0 \gg 1 \quad (40-4)$$

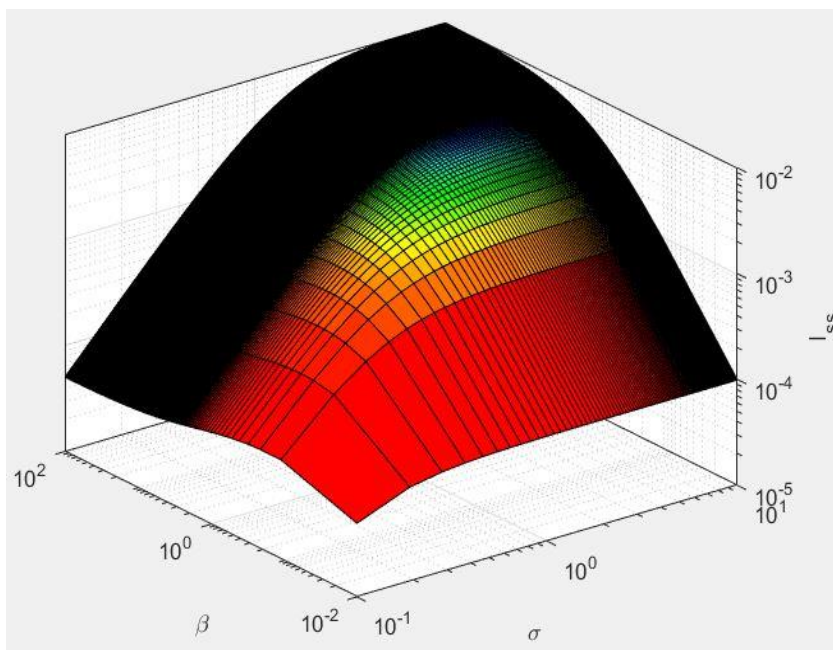
در غلظت‌های بسیار بالا از بستر ( $s_0 \gg k_M$ ) یا ( $S_0 \gg 1$ ) جریان خروجی نسبت به غلظت  $S_0$  تغییر نمی‌کند در نتیجه پاسخ زیست‌حسگر را در غلظت‌های پایین زیرلایه بررسی می‌کنیم [54، 55]. برای بررسی تأثیر عدد بایوت و درک این موضوع که از چه طریق می‌توان شرایط محدود کننده نفوذ داخلی یا خارجی را بدست آورد، فرض می‌کنیم هر دو عدد بایوت برابر باشند.

با مساوی در نظر گرفتن عددهای بایوت، رابطه (41-4) به دست می‌آید.

$$I_{ss} = S_0 \left( 1 - \frac{\beta}{\sigma \sinh(\sigma) + \beta \cosh(\sigma)} \right) \frac{\beta}{\beta + 1} \quad S_0 \ll 1 \quad (41-4)$$

شکل (3-4) جریان بدون بعد  $I_{ss}$  را در غلظت  $S_0 = 0.01$  نشان می‌دهد. تمام مقادیر  $I_{ss}$  با استفاده از فرمول (41-4) محاسبه شده است. در شکل (3-4) برای همه مقادیر  $\beta$  جریان بدون بعد  $I_{ss}$  به ازای ( $\sigma < 1$ )، به صورت یک تابع افزایشی خطی از  $\sigma$  است [56]. با این حال با کاهش  $\beta$  قسمت خطی کمی کاهش می‌یابد. در هر دو مقدار  $\sigma$  و  $\beta$  بزرگ جریان  $I_{ss}$  در مقدار 0,01 ثابت می‌شود. پس در  $\sigma \rightarrow \infty$  و  $\beta \rightarrow \infty$  مقدار  $I_{ss}$  به  $S_0$  نزدیک می‌شود.





شکل ۴-۳- نمودار خروجی جریان حالت پایدار زیست‌حسگر در  $S_0 = 0.01$

از آنجا که افزایش جریان زیست‌حسگر، تاثیر جریان نویزی را کاهش می‌دهد، بهینه‌سازی زیست‌حسگر از نظر تولید تا حد ممکن بسیار اهمیت دارد. مقدار  $\sigma$  را می‌توان با افزایش فعالیت آنزیمی  $v_{max}$  یا افزایش ضخامت غشای آنزیم  $l_e$  افزایش داد [۵۷]. افزایش در مقدار  $\sigma$  منجر به افزایش مقدار آنزیم می‌شود. از آنجا که اکثر آنزیم‌ها گران قیمت هستند، کاهش مقدار آنزیم در ساخت زیست‌حسگرها از اهمیت بسیاری برخوردار است. از آنجا که در  $\sigma > 5$  جریان حالت پایدار بدون بعد عملاً با افزایش مقدار  $\sigma$  ثابت می‌شود، مقدار حداقل آنزیم  $\approx 5$  برای دستیابی به یک پاسخ تقریباً حداکثری برای هر عدد بایوت کافی است [۵۷، ۵۹].

شکل (۳-۴) همچنین نشان می‌دهد در مقادیر  $(\beta > 10)$ ، افزایش در  $\beta$  هیچ تأثیر قابل توجهی در جریان حالت پایدار ندارد. به طور کلی، اگر تعداد عدد بایوت بیش از ۱۰۰ باشد اثر مقاومت در برابر انتقال جرم خارجی، ناچیز است. با توجه به رابطه (۴-۴) تغییرات جریان حالت پایدار  $I_{ss}$  تنها به دو مقدار  $\sigma$  و  $\beta$  وابسته است.

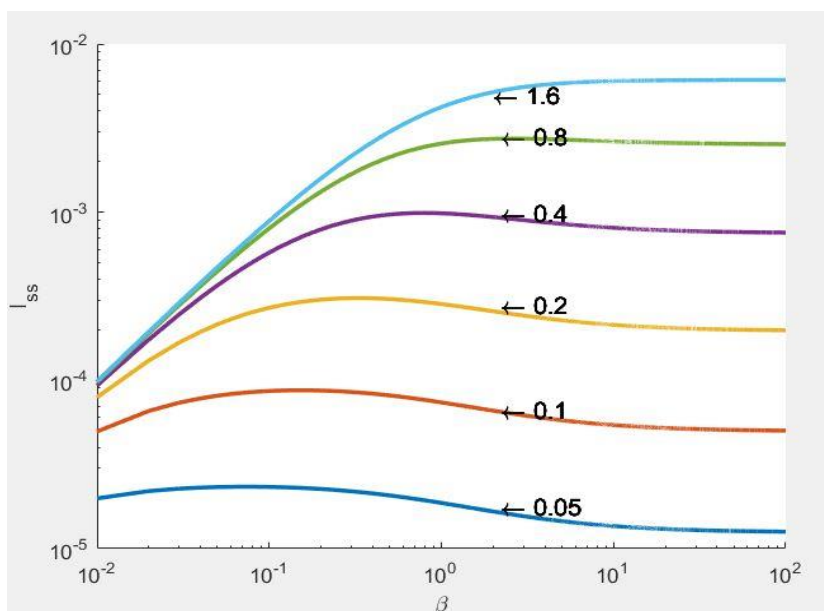
شکل (۴-۴) نمودار جریان حالت پایدار  $I_{ss}$  برحسب عدد بایوت  $\beta$  و شش مقدار  $(\sigma : 0.5, 0.4, 0.2, 0.1, 0.8, 1.6)$  را نشان می‌دهد. در این شکل به وضوح مشخص است که جریان حالت پایدار  $I_{ss}$  در همه‌ی مقادیر  $\sigma$  به حداکثر مقدار  $\beta$  خود رسیده و در نهایت کم شده است. اما در  $\sigma = 1.6 > \sigma_{max}$  به حالت اشباع کامل رسیده است [۶۰].

با توجه به شکل (۴-۴) مقادیر حداکثری  $\beta$  به‌ازای هر  $\sigma$  به شرح ذیل است.

جدول ۴-۱ مقادیر  $\beta_{max}$  به ازای  $\sigma$  مختلف

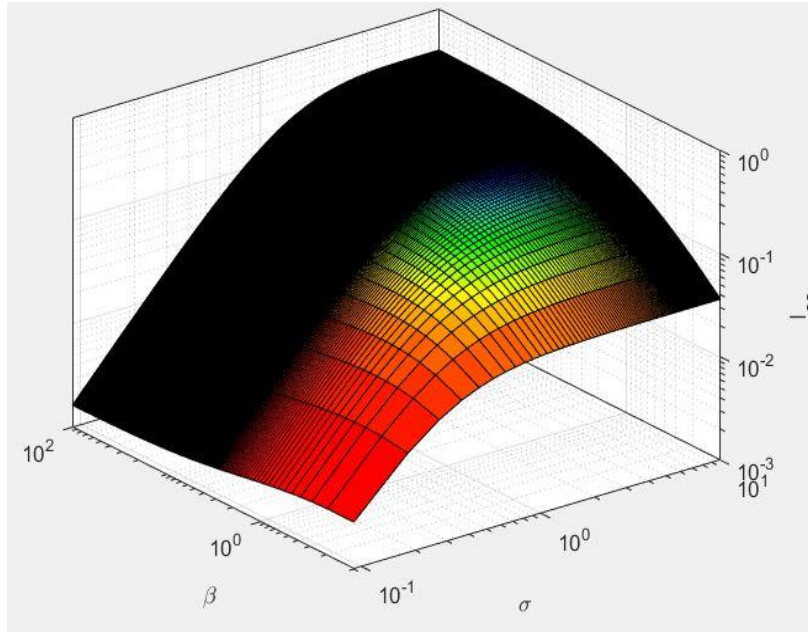
$\sigma$	0.05	0.1	0.2	0.4	0.8
$\beta_{max}$	0.073	0.15	0.33	0.76	2.6

حداکثر پاسخ زیست‌حسگر؛ در  $(\sigma < \beta)$  به تغییرات پاسخ سینماتیک آنزیم، در  $(\sigma > \beta)$  و  $(\sigma > \beta > 1)$  به کنترل انتشار خارجی، و یا در هر دو کنترل انتشار داخلی و خارجی بستگی دارد.



شکل ۴-۴- نمودار خروجی جریان حالت پایدار زیست‌حسگر در شش مقدار  $\sigma$ ، بقیه مقادیر مانند شکل (۳-۴) است

شکل (۵-۴) نشان می‌دهد که شکل سطح  $I_{ss}$  به عنوان تابعی از  $\sigma$  و  $\beta$  در غلظت زیرلایه  $(S_0 = 0.01)$  بسیار شبیه به شکل (۳-۴) است. با این تفاوت که پانصد برابر کمتر از غلظت  $(S_0 = 0.01)$  محاسبه می‌شود. مقادیر  $I_{ss}$  در شکل (۵-۴) با استفاده از معادلات (۲۰-۴) تا (۳۰-۴) به دست آمده است.



شکل ۴-۵- نمودار خروجی جریان حالت پایدار زیست‌حسگر در  $S_0 = 5$

شبیه‌سازی شکل (۳-۴) در چند ثانیه انجام می‌شود، اما برای رسم شکل (۵-۴) نیاز به چند روز اجرا برنامه است چون با روش‌های ساده قابل حل نیست. اگر چه سطوح شکل‌های (۳-۴) و (۵-۴) شبیه به هم است، اما برخی از تفاوت‌ها در جریان حالت پایدار  $I_{SS}$  اتفاق می‌افتد که ناشی از تغییرات  $\beta$  است. به‌طور خاص برای  $\sigma = 0.2$  و  $\beta = 100$  حداکثر جریان حالت پایدار  $I_{SS}$  در غلظت ( $S_0 = 0.01$ )،  $1.55$  است. و برای ( $S_0 = 5$ )،  $1.9$  است.

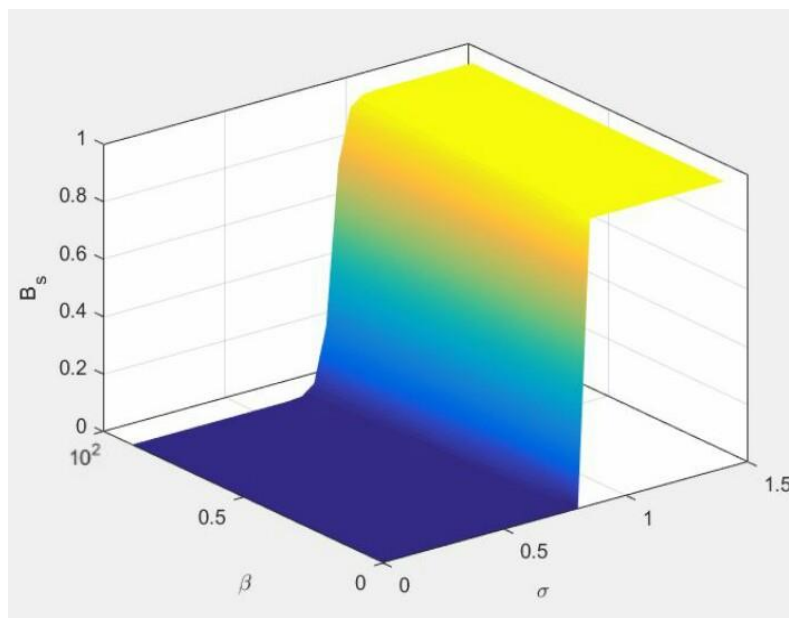
#### ۴-۸-۲ اثر حساسیت

زیست‌حسگرها در غلظت‌های پایین زیرلایه حساسیت بیشتری دارند. رابطه (۳۹-۴) نشان می‌دهد که جریان حالت پایدار  $I_{SS}$  به‌صورت مستقیم با غلظت  $S_0$  رابطه دارد [۶۱]. در نتیجه حساسیت  $B_S$  برای غلظت‌های پایین  $S_0$  به  $1$  نزدیک می‌شود ( $S_0 \ll 1$ ). از طرفی در غلظت‌های بالا زیرلایه، ( $S_0 \gg 1$ ) جریان  $I_{SS}$  با توجه به رابطه (۴۰-۴) با غلظت‌های زیرلایه تغییر نمی‌کند، به این معنی که برای ( $S_0 \gg 1$ )،  $B_S = 0$  می‌شود.

روش‌های مختلفی در توسعه زیست‌حسگرها برای افزایش حساسیت آن‌ها در غلظت‌های متوسط زیرلایه استفاده می‌شود. از نظر مدل ریاضی، می‌توان حساسیت را با انتخاب مقادیر مختلف پارامترهای مدل افزایش داد. برای تعیین تأثیر پارامترهای مدل در حساسیت زیست‌حسگر، حساسیت بدون بعد  $B_S$  در مقادیر  $\sigma$  و  $\beta$  متفاوت محاسبه شد. شکل (۶-۴) نتایج شبیه‌سازی را برای غلظت متوسط ( $S_0 = 5$ )، زیرلایه نشان می‌دهد. در شکل (۶-۴) مشاهده می‌شود که با

افزایش  $\sigma$  برای هر مقدار از  $\beta$ ، حساسیت زیست‌حسگر افزایش می‌یابد. حساسیت بدون بعد  $B_S$  نیز با کاهش  $\beta$  افزایش می‌یابد، اگرچه این افزایش تنها وقتی می‌تواند حاصل شود که  $(\sigma \approx 1)$  شود. شبیه‌سازی عددی نشان داد که در  $(\sigma = 1)$ ، هنگامی که عدد بایوت از ۱۰۰ تا ۰,۰۱ کاهش می‌یابد، حساسیت بدون بعد از مقدار  $B_S = 0,18$  تا  $B_S = 1$  افزایش می‌یابد [۶۰، ۶۳].

حساسیت با افزایش ضخامت غشای خارجی و کاهش نفوذپذیری آن غشا، تغییر می‌کند. هدف اصلی شکل (۴-۶) به دست آوردن  $B_S$  برای مقادیر  $\sigma$  و  $\beta$  مختلف در غلظت متوسط ( $S_0 = 5$ ) است. از طرف دیگر، از آنجا که حساسیت زیست‌حسگر برای غلظت‌های کم ( $S_0 \ll 1$ )،  $B_S = 1$  می‌شود و برای غلظت‌های بالا  $B_S = 0$  می‌شود، افزایش حساسیت زیست‌حسگر برای غلظت متوسط زیرلایه قسمت اصلی پاسخ مسئله است. شکل (۴-۶) نشان می‌دهد که حتی در غلظت  $S_0 = 5$ ، با افزایش  $\sigma$  یا کاهش  $\beta$  می‌توان حساسیت بسیار بالایی  $B_S \approx 1$  بدست آورد.



شکل ۴-۶- نمودار خروجی حساسیت بدون بعد زیست‌حسگر در  $S_0 = 5$

#### ۴-۸-۳ اثر پایداری پاسخ

پایداری پاسخ زیست‌حسگر یکی دیگر از خصوصیات بسیار مهم زیست‌حسگرهای مبتنی بر آنزیم است. پایداری زیست‌حسگر با توجه به هندسه حسگر، روش تهیه و برخی پارامترهای دیگر تغییر می‌کند. همچنین به عوامل محدودکننده نرخ پاسخ نیز بستگی دارد، این عوامل شامل نفوذ زیرلایه و میزان واکنش آنزیم است. فعالیت آنزیم (حداکثر سرعت آنزیم) با گذشت زمان تغییر می‌کند، نوسانات PH و تغییرات دما نیز می‌توانند نفوذپذیری غشا را تغییر دهند و مانع نفوذ شوند،

جلوگیری از این فرآیندها به طور کامل امکان پذیر نیست [۶۴].

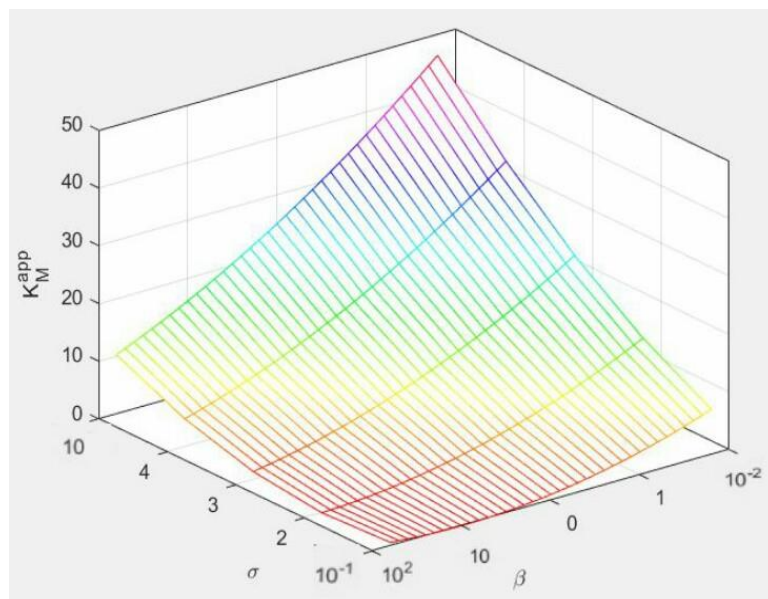
ضریب نفوذ  $\sigma$  و عدد بایوت  $\beta$  پارامترهای اصلی حسگرهای زیستی هستند که شامل فعالیت آنزیم و همچنین ضخامت نفوذپذیری غشا بیرونی می‌شوند. برای داشتن یک زیست‌حسگری که بتواند در زمان طولانی پایداری خود را حفظ کند، پاسخ آن باید در کوچک‌ترین تغییرات  $\sigma$  و  $\beta$  ثابت باشد. شکل (۳-۴) و (۵-۴) نشان می‌دهد که جریان زیست‌حسگر حالت پایدار با کاهش ضریب نفوذ  $\sigma$  و همچنین با کاهش عدد بایوت  $\beta$  می‌تواند چندین برابر شود. با توجه به اینکه  $\sigma \propto \sqrt{v_{max}}$  پس جریان حالت پایدار  $I_{ss}$  با تغییرات  $v_{max}$  تغییر می‌کند. بنابراین، پاسخ زیست‌حسگر نسبت به تغییرات در فعالیت آنزیم ( $\sigma$  و  $v_{max}$ ) در مقاومت خارجی بالاتر ( $\beta$  پایین‌تر) حساسیت کمتری دارد.

از آنجا که  $\beta$  متناسب با ضریب نفوذ زیرلایه در غشای خارجی است ( $\beta \propto d_{sm}$ )، و این ضریب نفوذ به صورت مستقیم با نفوذپذیری غشا متناسب است، جریان ثابت را می‌توان با کاهش نفوذپذیری غشا کاهش داد (به شکل (۳-۴) و (۵-۴) مراجعه کنید) [۶۵]. زیست‌حسگر نیز وقتی که تحت تاثیر نفوذ داخلی و انتقال جرم خارجی باشد پایدار است ( $\sigma > \beta \gg 1$ ).

#### ۴-۸-۴ اثر ثابت میکائلیس منتن

برای بررسی اثر محدودیت انتشار در ثابت میکائلیس-منتن، ثابت  $K_M^{app}$  برای مقادیر مختلف  $\sigma$  و  $\beta$  محاسبه شد. با تغییر غلظت زیرلایه، مقدار  $S_0 = 10^3$  مناسب‌ترین غلظت برای آن است که پاسخ شبیه سازی عددی زیست‌حسگر به نیمی از پاسخ حداکثری برسد. همانطور که در شکل (۷-۴) دیده می‌شود ثابت  $K_M^{app}$  با افزایش  $\sigma$  و کاهش  $\beta$  افزایش می‌یابد [۶۶]. آزمایش‌های عددی ما نشان داد که افزایش  $K_M^{app}$  به محدودیت نفوذ داخلی بستگی دارد. هنگامی که پاسخ زیست‌حسگر به طور قابل توجهی تحت کنترل نفوذ ( $\sigma = 10$ ) باشد، ثابت میکائلیس منتن را می‌توان با کاهش  $\beta$ ، افزایش داد.

ماهیت پیچیده حسگرهای زیستی شامل بهینه‌سازی هم‌زمان چندین هدف است، که برخی از آن‌ها با یکدیگر متناقض هستند و این یعنی اگر یکی از آن‌ها بهبود یابد، بقیه پارامترها بدتر می‌شوند [۶۷]. بهینه‌سازی چندهدفه همراه با تجسم چندبعدی می‌تواند برای یافتن راه‌حل‌های تصمیم‌گیری در هنگام طراحی حسگرهای زیستی در مدل ریاضی دو بخشی (۲-۴) تا (۴-۱۲) از لایه نفوذ، استفاده شود. با این حال، یک مدل چند بخشی را می‌توان به یک مدل دو بخشی کاهش داد. پس اثرات مورد بررسی در این پژوهش، قابل تعمیم به مدل‌های چندلایه دیگر نیز می‌تواند باشد [۶۸، ۶۹].



شکل ۴-۷- نمودار خروجی ثابت میکائلیس منتن زیست‌حسگر

#### ۴-۸-۵ اثر محدودیت انتشار در پاسخ و حساسیت زیست‌حسگر آمپرومتری

انتشار، حرکت خالص هر چیزی (به عنوان مثال اتم، یون، مولکول) از منطقه‌ای با غلظت بالاتر به ناحیه‌ای با غلظت کمتر است [۷۰].

نفوذ، حرکت اتم‌ها در داخل ماده در مقیاس اتمی است. حال این سوال مطرح می‌شود که چه ارتباطی بین انتشار و نفوذ است. در اینجا قوانین نفوذ فیک مطرح می‌شود که وظیفه اصلی آن‌ها، توصیف سرعت حرکت ذره در ماده است. قانون اول فیک جریان نفوذ را تحت شرایط ثابت به غلظت مرتبط می‌سازد. فرض بر این است که جریان از یک ناحیه با غلظت بیشتر همراه با یک شیب غلظت متناسب به یک ناحیه با غلظت کمتر حرکت می‌کند. در قانون دوم فیک این مسئله که چگونه نفوذ، غلظت را با گذشت زمان تغییر می‌دهد پیش‌بینی می‌کند که نفوذ یک پدیده وابسته به زمان است. پس لازم است بدانیم که نفوذ با چه سرعتی رخ می‌دهد یا نرخ انتقال جرم چقدر است. لذا مهم‌ترین نتایج، نمودارهای تجربی هستند. حالت پایدار حالتی است که در آن شرایط با گذشت زمان تغییر نمی‌کند. در نمودارهای تجربی جریان برحسب زمان، شیب غلظت موجود در نمودار از یک بازه زمانی به بعد ثابت است و با گذشت زمان تغییر نمی‌کند.

#### ۴-۸-۶ اثر زمان پاسخ

کاهش  $\beta$  یا همان افزایش محدودیت نفوذ خارجی، زمان پاسخ را طولانی می‌کند. که این موضوع باعث افزایش حساسیت نیز می‌شود.

# فصل پنجم: ساخت و نتایج آزمایشگاه‌ها

## ۵-۱ ارتباط دیابت و سرطان

اکثر ما تصور می‌کنیم سرطان به علت اختلال در ژن‌ها ایجاد می‌شود، و این اختلال موجب رشد کنترل‌نشده‌ی سلول‌ها، و ایجاد سرطان می‌گردد. که البته این نظریه کاملاً درست است، اما براساس برخی برآوردها در افراد مبتلا به دیابت نوع ۲ خطر ابتلا به سرطان می‌تواند تا ۳۰ درصد افزایش یابد. یک نظریه‌ی غالب در مورد این اتفاق، مقاومت به انسولین<sup>۱</sup> است. انسولین علاوه بر مسئولیت تنظیم ورود گلوکز به سلول‌ها، به عنوان یک هورمون رشد نیز عمل می‌کند. در افراد مبتلا به مقاومت به انسولین، مقدار انسولین ترشح شده از پانکراس<sup>۲</sup> برای کمک به ورود گلوکز به سلول افزایش می‌یابد، وضعیتی که به نام هایپرانسولینمی<sup>۳</sup> (شرایطی که در آن مقدار انسولین موجود در خون بیشتر از مقدار طبیعی و متناسب قند خون می‌شود. و معمولاً در مراحل اولیه دیابت نوع دو اتفاق می‌افتد) شناخته می‌شود. براساس این نظریه، افزایش میزان انسولین در خون، رشد سلول‌های سرطانی را تحریک می‌کند.

تحقیق پیشین توسط دکتر Rask-Madsen بر روی تشکیل پلاک در سرخرگ‌ها نشان داد، مقاومت به انسولین در سلول‌های دیواره‌ی سرخرگ‌ها سبب تحریک ورود گلبول‌های سفید خون به بافت‌های اطراف می‌شود [۳۵]. عملکرد گلبول‌های سفید خون، ایجاد التهاب است. مشابه با آنچه در ترمیم، پس از ایجاد جراحت رخ می‌دهد. اما این التهاب مزمن است و این بدان معنی است که از بین نمی‌رود. زمانی که گلبول‌های سفید خون همچنان به داخل بافت نفوذ می‌کنند ایجاد نوعی التهاب پایدار می‌نمایند. دکتر مدسن می‌گوید: راه متفاوتی برای حل این مشکل پیدا شده است. او می‌افزاید: شاید در برخی شرایط این خود هایپرانسولینمی نیست که در این مسئله نقش دارد بلکه مقاومت به انسولین موجب وقوع اتفاقی در بافت‌های اطراف سلول‌های سرطانی می‌شود که مقصر اصلی در این ارتباط است. بنابراین ما نمی‌توانیم بگوییم علت ریشه‌ای این ارتباط یا آغازگر رشد تومور، مقاومت به انسولین است، تنها می‌توانیم بگوییم مقاومت به انسولین به رشد تومورها زمانی که تشکیل شوند، کمک می‌کند.

## ۵-۲ مواد شیمیایی مورد استفاده

مواد شیمیایی که در ساخت زیست‌حسگر گلوکز مورد استفاده قرار گرفته است در جدول (۵-۱) آمده است.

۱ Insulin

۲ Pancreas

۳ Hyperinsulinemia



جدول ۵-۱ مواد شیمیایی مورد استفاده در ساخت زیست حسگر

نام ماده	کمپانی و کشور سازنده	موارد مورد استفاده
گلوکز اکسیداز	Sigma (آلمان)	ساخت زیست حسگر
پودر گلوکز	پویندگان سلامت (ایران)	تهیه محلول تست
منومر آنیلین	Merck (آلمان)	تهیه پلی آنیلین
نانوذرات نقره	دیده‌ور (ایران)	ساخت حسگر
اتانول	آرمان سینا (ایران)	حلال پلی آنیلین
اسید کلریدریک	Merck (آلمان)	تهیه پلی آنیلین
ترا هیدرو فوران	Merck (آلمان)	تهیه پلی آنیلین
استون	Merck (آلمان)	تهیه پلی آنیلین
آمونیم پرسولفات	Merck (آلمان)	تهیه پلی آنیلین

### ۵-۳ تجهیزات آزمایشگاهی و دستگاه‌های مورد استفاده

تجهیزات و دستگاه‌هایی که در ساخت زیست حسگر گلوکز مورد استفاده قرار می‌گیرند به این شرح هستند: اتو آنالیزور مدل RA1000 (ساخت کمپانی Pomeca سوئد)، مولتی متر آنالوگ مدل XR0 (ساخت کمپانی Hiochi ژاپن)، منبع تغذیه متغیر (ساخت شرکت Megatik چین)، مافور (ساخت شرکت شفا ایران)، سانتریفوژ (ساخت شرکت بهدار ایران)، ترازوی دیجیتالی مدل ۲۰۰-K (شرکت Rotck آلمان)، دستگاه اسپین کوتر (ساخت ایران)، دستگاه EDS و SEM، دستگاه PH سنج مدل SO200 (ساخت کمپانی dragger آلمان).

### ۵-۴ طراحی برد مدار چاپی<sup>۱</sup> شامل الکترودها

برای طراحی مدار چاپی شامل الکترودها، ابتدا در نرم‌افزار پروتل شکل الکترودها کشیده شد و سپس به کارگاه سازنده فیبر مدار چاپی، جهت سفارش داده شد. با توجه به اینکه ما از روش آمپرومتری برای اندازه‌گیری گلوکز استفاده می‌کنیم، از هر سه الکتروود در طراحی فیبر استفاده می‌شود. ابتدا مدار چاپی طراحی شده در ابعاد دو در سه سانتی‌متر بود، اما چون برای پوشاندن این سطح مقدار آنزیم زیادی لازم بود و با توجه به گران‌قیمت بودن آن، ابعاد مدار تا اندازه  $0.7 \times 0.5$  سانتی‌متر طراحی شد تا هیچ مشکلی در اندازه‌گیری گلوکز به وجود نیاید چون برای ما میزان گلوکز در واحد سطح مهم است. برای ساخت زیست حسگر، سطحی که قرار است پلی آنیلین روی آن انباشته شود از مدار شکل (۱-۵) استفاده شده است.

<sup>۱</sup> Printed Circuit Board

شکل سمت چپ مربوط به الکتروود کار و مرجع است، و شکل سمت راست الکتروود مقابل است. و این مدار شامل سه الکتروود است که مسیر حرکت آن‌ها توسط خطوط مسی مشخص شده است.



شکل ۵-۱ زیرلایه مورد استفاده در ساخت زیست‌حسگر

#### ۵-۵ مدار تقویت کننده

با توجه به اینکه خروجی جریان زیست‌حسگر در حد نانوآمپر است، از یک مدار تقویت کننده جهت افزایش جریان استفاده شده است. در این مدار برای تقویت خروجی جریان از OP-07 OP-amp استفاده می‌کنیم. خروجی جریان توسط یک اهم‌متر آنالوگ اندازه‌گیری می‌شود.

#### ۵-۶ پلی‌آنیلین

پلی‌آنیلین یکی از مهم‌ترین نانوپلیمرهای هدایتی رسانای جدید است که دارای خواص اپتیکی، الکترونیکی و مکانیکی رساناها است. پلی‌آنیلین که به عبارتی، فلز آلی است به راحتی از مونومر (موادی هستند تشکیل شده از مولکول‌های واحد؛ که از پیوستن آنها پلیمر به وجود می‌آید)، ارزان قیمت آنیلین با روش‌های ساده شیمیایی و یا الکتروشیمیایی قابل تهیه است.

#### ۵-۶-۱ تهیه پلی‌آنیلین

در این پژوهش برای تهیه پلی‌آنیلین که توسط اکسیدان شیمیایی در حضور اسید کلریدریک انجام گرفته است، دو مول مونومر پلی‌آنیلین به ظرف شامل ۳۰۰ میلی‌لیتر اسید کلریدریک یک مولار اضافه می‌شود. این ظرف در داخل یک محفظه یخ قرار می‌گیرد تا دمای حدود صفر الی دو درجه سانتی‌گراد حفظ شود. سپس ۰/۰۵ مول آمونیوم پرسولفات به‌عنوان اکسیدکننده، به‌صورت قطره قطره در ۲۰۰ میلی‌لیتر اسید کلریدریک در طی حدود ۸ ساعت اضافه شد. بعد از آن پلیمر رسوب شده از محلول جدا گردید و در ۷۰۰ میلی‌لیتر سود یک مولار حل شد. در آخر رسوب به‌دست آمده توسط کاغذ صافی دوباره فیلتر شد و با ۷۰۰ میلی‌لیتر استون شستشو داده شد و

(توسط فور به مدت حدود ۴۸ ساعت) بعد از آن خشک گردید. در شکل (۲-۵) پلی آنیلین به دست آمده مشاهده می شود.



شکل ۲-۵ پلی آنیلین تولید شده در آزمایشگاه

#### ۲-۶-۵ تهیه نانوکامپوزیت پلی آنیلین

در این مرحله باید پلی آنیلین به دست آمده، روی الکترودها انباشته شود. برای این منظور ۰/۱ میلی گرم پلی آنیلین با یک میلی لیتر اتانول در دمای اتاق ترکیب شد. بعد از اینکه ترکیب خوب توسط دستگاه سانتریفوژ و والتراسون مخلوط شد (ترکیب حدود ۱۰ دقیقه در سانتریفوژ و ۲۰ دقیقه در دستگاه اولتراسوند ماند) نانوکامپوزیت به دست آمده با استفاده از دستگاه اسپین کوتینگ بین الکترودها قرار گرفت. شکل (۳-۵) نشان دهنده محلول به دست آمده و نانوکامپوزیت روی الکترودها است.



شکل ۳-۵ نانوکامپوزیت پلی آنیلین تولید شده در آزمایشگاه

البته در این آزمایش اسپین کوتینگ در ۲ مرحله انجام گرفت و در هر مرحله، زیرلایه؛ شامل الکترودها و پلی‌آنیلین حدود نیم ساعت در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. سپس این زیرلایه در معرض بخارهای اسید کلریدریک (حدود ۲ دقیقه) قرار گرفت تا عمل دو پینگ صورت پذیرد. لازم به ذکر است در این حالت خروجی زیست‌حسگر برای مقادیر حدود ۲۰۰ mg/dl قابل اندازه‌گیری بود اما محدوده نرمال برای گلوکز خون در بدن ۷۰ الی ۱۱۰ mg/dl است. با توجه به این مسئله و افزایش هدایت الکترون‌ها، به ترکیب پلی‌آنیلین و اتانول، مقداری نانوذره نقره اضافه کردیم. طی آزمایش‌های صورت‌گرفته بهترین جواب از نظر خطی بودن و عدم سریع اشباع پاسخ خروجی زیست‌حسگر در ۲/۵ درصد وزنی پلی‌آنیلین مورد استفاده، یعنی حدود ۰/۰۲۵ میلی‌گرم نانوذره نقره به‌دست آمد.

#### ۵-۷ تثبیت آنزیم گلوکز اکسیداز

بعد از اینکه پلی‌آنیلین به همراه نانوذره نقره روی الکترودها قرار گرفتند، ابتدا محلول گلوکز اکسیداز تهیه شد. به این شکل که ۰/۰۱ میلی‌گرم آنزیم گلوکز اکسیداز در ۰/۸ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد. محلول، به مدت نیم ساعت در سانتی‌فیوژ قرار گرفت سپس روی زیرلایه به‌دست آمده از مرحله قبل به صورت قطره قطره در ۳ مرحله ریخته شده و در هر مرحله یک ساعت فاصله زمانی طی شد. در مرحله آخر توسط یک غشا نیمه‌تراوا (گونه‌ای غشا است که به مولکول‌ها و یون‌های مشخصی اجازه عبور می‌دهد)، کل زیرلایه که شامل دو الکتروده پلی‌آنیلین و آنزیم تثبیت شده روی آن است پوشش داده شد. برای اینکه مطمئن شویم آنزیم گلوکز اکسیداز روی زیرلایه است، زیرلایه را درون محلول گلوکز ۱۰۰ mg/dl قرار دادیم بعد از حدود ۱۰ ثانیه و خارج کردن زیرلایه، با توجه به اینکه در حضور گلوکز اکسیداز، باید نتیجه واکنش پراکسید هیدروژن باشد، به محلول معرف، ۱ ml پراکسید هیدروژن اضافه کردیم. رنگ محلول به رنگ قرمز تثبیت شد، که نشان دهنده انجام واکنش گلوکز اکسیداز روی الکترودها با استفاده از پلی‌آنیلین است.

#### ۵-۷-۱ تهیه محلول‌های استاندارد گلوکز برای بررسی عملکرد زیست‌حسگر

برای اینکه بتوانیم حسگر را ارزیابی کنیم باید محلول‌های استاندارد گلوکز تهیه شود، تا عملکرد حسگر و خروجی جریان در هر غلظت را اندازه‌گیری کنیم، واحد اندازه‌گیری گلوکز در مشخصه‌های پزشکی میلی‌مول یا میلی‌گرم بر دسی‌لیتر است که ما در این مطالعه از میلی‌گرم بر دسی‌لیتر استفاده می‌کنیم. غلظت‌هایی که برای تحلیل عملکرد زیست‌حسگر تهیه شده است در بازه ۱۰۰ تا ۴۰۰ mg/dl است. در تهیه این غلظت‌ها، برای اینکه از صحت میزان گلوکز اطمینان پیدا کنیم، گلوکز را با وزن مشخص با یک مقطر ترکیب می‌کنیم. محلول‌ها را توسط دستگاه اتو

آنالیزور مدل RA1000 تست کردیم. این دستگاه یک آنالیزور است که پارامترهای مختلفی در بدن را اندازه‌گیری می‌کند که یکی از آنها گلوکز است. اساس کار این دستگاه مبتنی بر روش‌های طیف‌سنجی است. در شکل (۴-۵) این دستگاه نشان داده شده است.



شکل ۴-۵ دستگاه اتو آنالیزور RA1000

#### ۵-۷-۲ اندازه‌گیری گلوکز

برای اندازه‌گیری جریان گلوکز، ابتدا ولتاژ  $0/5$  ولت را به محل برخورد الکتروود مرجع و الکتروود کار اعمال می‌کنیم، بعد یک قطره از محلول دارای گلوکز را روی زیست‌حسگر می‌ریزیم. اندازه‌گیری خروجی جریان تقویت‌کننده توسط اهم‌متر گلوکز انجام شد.

#### ۵-۸ بررسی عملکرد زیست‌حسگر

برای بررسی عملکرد زیست‌حسگر، از محلول‌های شامل گلوکز و آب مقطر با درصد وزنی مشخص استفاده کردیم. میزان گلوکز محلول‌ها به صورت دقیق با دستگاه اتو آنالیزور مدل BT3000 به صورت دقیق مشخص شد. همانطور که ذکر شد، نانوکامپوزیت پلی‌آنیلین به تنهایی در زیست‌حسگر قابل استفاده نبود چون برای غلظت‌های کمتر از  $150 \text{ mg/dl}$  خروجی جریان زیست‌حسگر صفر بود. در حالی که بازه نرمال گلوکز در خون بین  $70$  تا  $120$  میلی‌گرم بر دسی‌لیتر است. پس برای بهبود عملکرد زیست‌حسگر به پلی‌آنیلین نانوذره نقره اضافه کردیم. بهترین پاسخ خروجی زیست‌حسگر در  $2/5$  درصد وزنی پلی‌آنیلین به دست آمد. در درصدهای وزنی بالای نانوذره‌های نقره، پاسخ خروجی زیست‌حسگر خیلی سریع به اشباع می‌رفت. خروجی زیست‌حسگر محلول گلوکز در بازه‌ای بین  $60$  تا  $390$  میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به بعد، تقریباً ثابت بود و تغییر

چندانی نداشت. با توجه به بحث فوق بازه قابل اعتماد برای این زیست حسگر ۶۰ تا ۳۳۰ میلی گرم بر دسی لیتر می باشد.

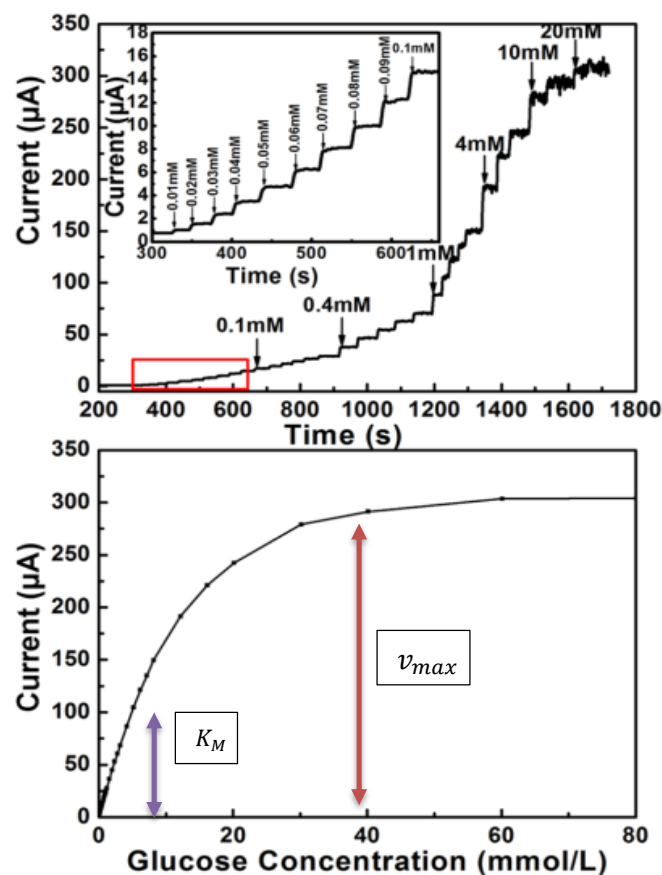
### ۹-۵ قند خون افراد سالم

برای اکثر افراد سالم، قند خون در محدوده زیر است.

- بین ۷۲ تا ۱۰۸ mg/dL ناشتا
- کمتر از ۱۴۰ mg/dL دو ساعت بعد از غذا

### ۱۰-۵ نتایج آزمایشگاهی

برای اینکه عملکرد زیست حسگر با نمونه های خون واقعی تست شود، نمونه خون ۱۰ بیمار تهیه گردید. ابتدا با دستگاه اتوآنالیزور BT3000 میزان گلوکز آن ها اندازه گیری شد، سپس خروجی جریان زیست حسگر با هر کدام از غلظت ها اندازه گیری گردید.



شکل ۵-۵ نمودار خروجی جریان بر حسب غلظت [۲۵]

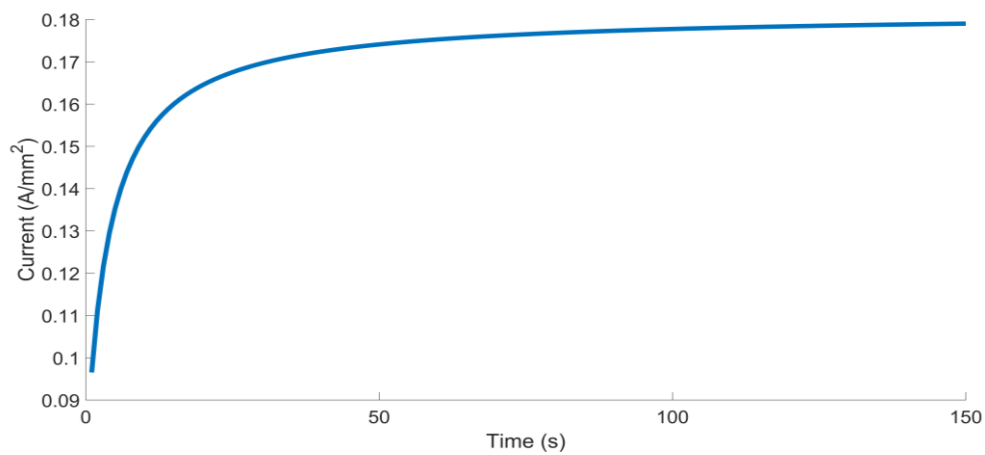
از این نمودارها مقادیر  $v_{max}$  و  $K_M$  مشخص می‌شود و بقیه مقادیر از روابط ریاضی فصل چهارم به دست می‌آید. و نتیجه در جدول (۲-۵) مشاهده می‌شود.

جدول ۲-۵ پارامترهای به دست آمده از آزمایش

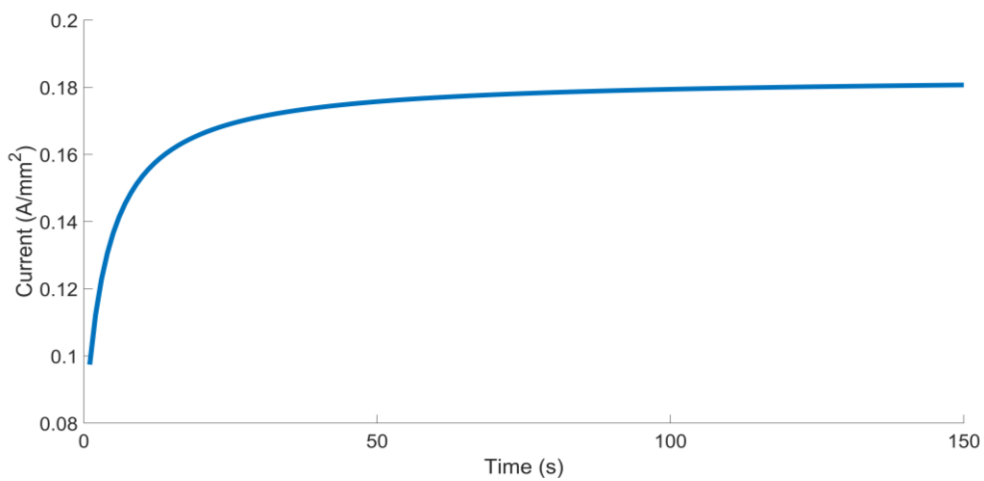
ID	$S_0$ (mM)	$v_{max}$ ( $\mu\text{m/s}$ )	$K_M$ (mM)	$d_{s_e}$ ( $\mu\text{m}^2/\text{s}$ )	$d_{s_m}$ ( $\mu\text{m}^2/\text{s}$ )	$l_e$ ( $\mu\text{m}$ )	$l_m$ ( $\mu\text{m}$ )
1	4	300	2.3	300	40	10	2
2	4	100	2.3	300	40	10	2
3	4	300	8	300	40	10	2
4	4	300	2.3	100	40	10	2
5	4	300	2.3	300	100	10	2
6	4	300	2.3	300	40	0.1	2
7	4	300	2.3	300	40	10	0.1
8	4	300	2.3	300	40	0.1	0.1
9	4	300	8	300	40	0.1	0.1
10	4	300	8	300	40	0.01	0.01

برای هر ده شناسه‌ی جدول (۲-۵)، یک نمودار جریان برحسب زمان رسم شد. نمودارهای هر ده بیمار در اینجا مستند نشده است، چون شباهت زیادی به یکدیگر دارند. تنها تفاوت نتایج به دست آمده، در مقیاس بندی جریان است؛ به این صورت که:

- مهم ترین پارامترهایی که در جواب زیست حسگرها تاثیرگذار هستند،  $l_m$ ،  $K_M$  و  $v_{max}$  است.
- ضخامت لایه آنزیم  $l_e$  تنها باعث تغییر در مقیاس جریان خروجی می‌شود.

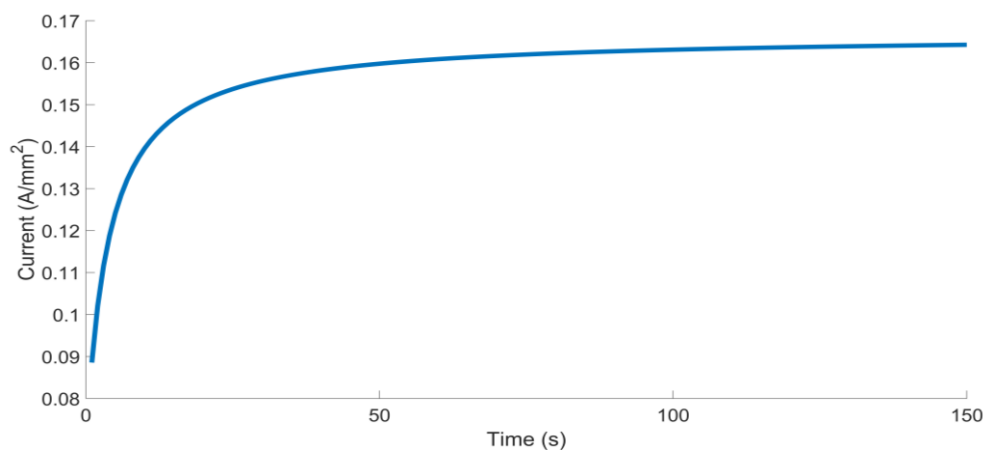


شکل ۶-۵ نمودار جریان بر حسب زمان برای بیمار اول، مقادیر پارامترها از جدول ۲-۵

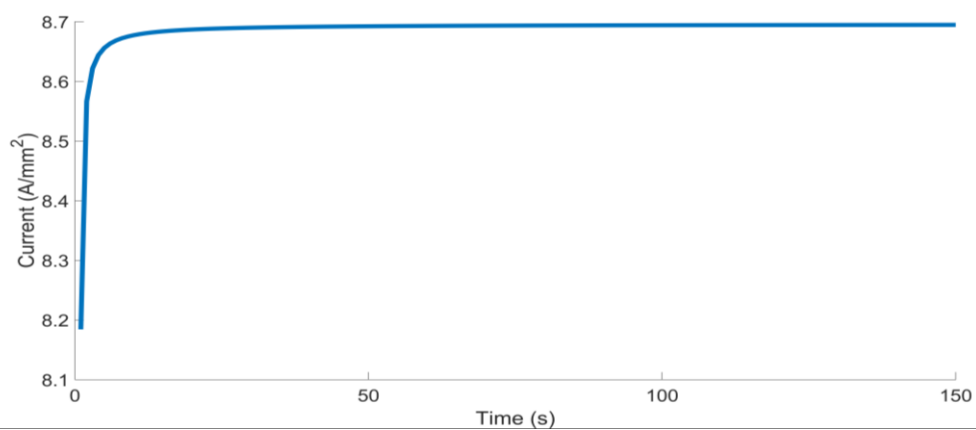


شکل ۷-۵ نمودار جریان بر حسب زمان برای بیمار دوم، مقادیر پارامترها از جدول ۲-۵

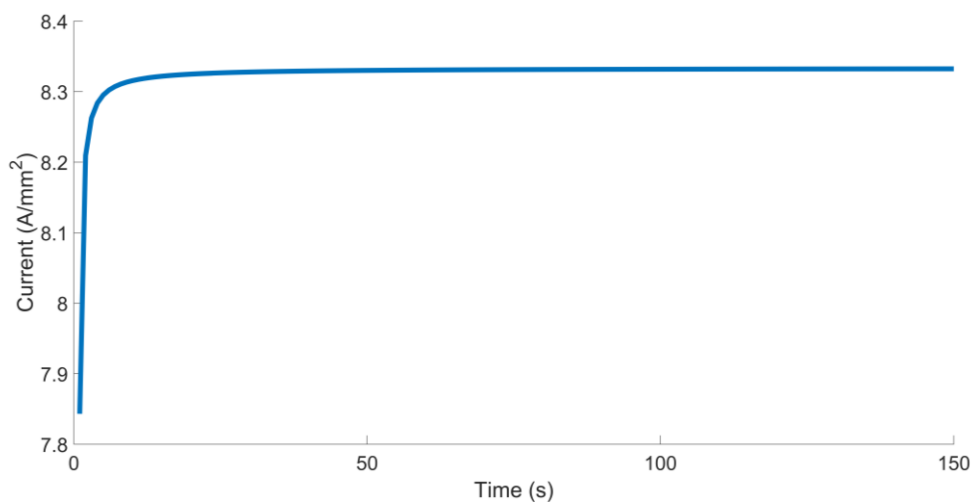




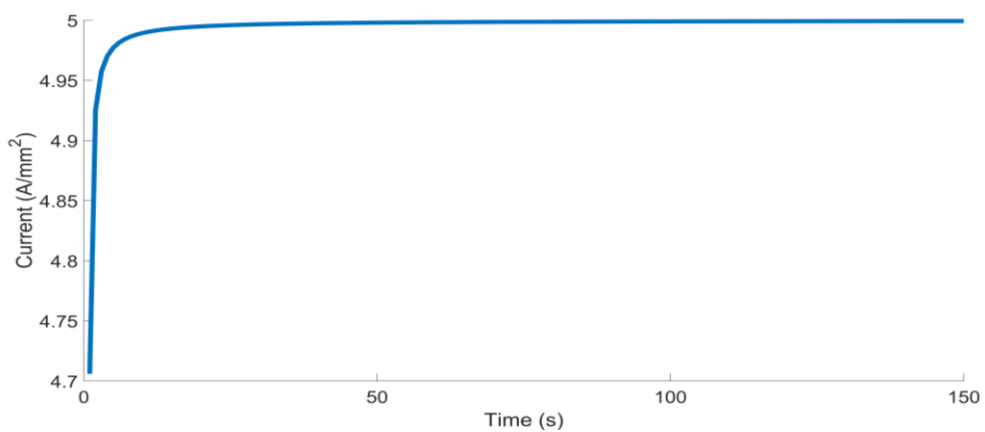
شکل ۸-۵ نمودار جریان بر حسب زمان برای بیمار پنجم، مقادیر پارامترها از جدول ۲-۵



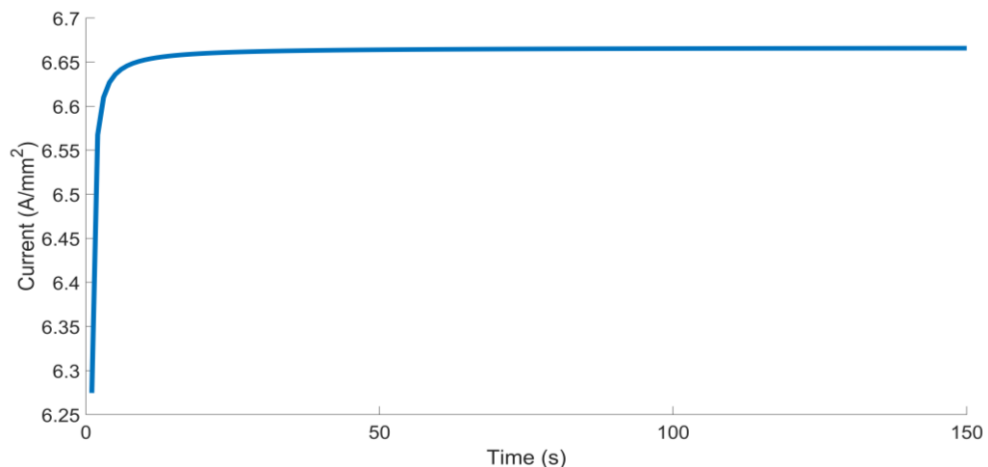
شکل ۹-۵ نمودار جریان بر حسب زمان برای بیمار هفتم، مقادیر پارامترها از جدول ۲-۵



شکل ۱۰-۵ نمودار جریان برحسب زمان برای بیمار هشتم، مقادیر پارامترها از جدول ۲-۵



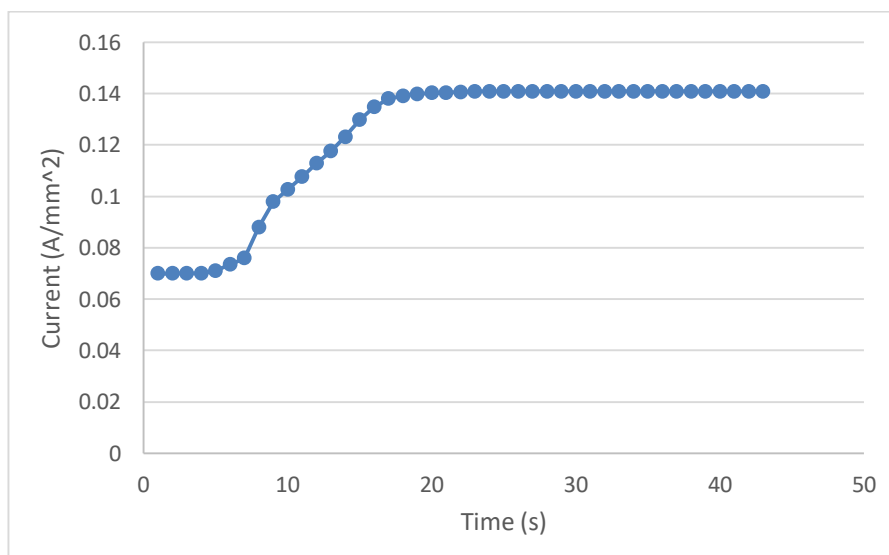
شکل ۱۱-۵ نمودار جریان برحسب زمان برای بیمار نهم، مقادیر پارامترها از جدول ۲-۵



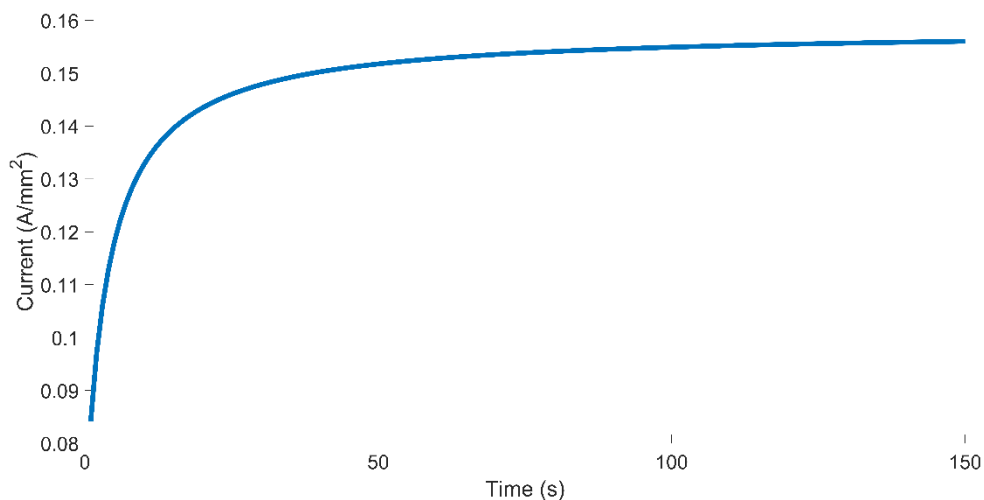
شکل ۵-۱۲ نمودار جریان برحسب زمان برای بیمار دهم، مقادیر پارامترها از جدول ۵-۲

### ۵-۱۱ اعتبارسنجی نمودار تجربی جریان

نمودار تجربی جریان برحسب زمان حاصل از داده‌های تجربی آزمایشگاه، که در شکل (۵-۱۳) نشان داده شده است با نمودار جریانی بیمار سوم (شکل (۵-۱۴)) مطابقت دارد. و این نتایج نشان می‌دهد که مدل با داده‌های آزمایشگاهی اعتبارسنجی شده است.



شکل ۵-۱۳ نمودار تجربی جریان برحسب زمان



شکل ۵-۱۴ نمودار جریان برحسب زمان برای بیمار سوم، مقادیر پارامترها از جدول ۵-۲

علت تاخیر زمانی در نمودار تجربی، تزریق غلظت‌های مختلف برای انتخاب بهترین غلظت است. همانطور که دیده می‌شود، پاسخ زمانی پایدار شدن در هر دو شکل یکسان است.

## ۵-۱۲ نتیجه‌گیری

- زیست‌حسگر تهیه شده با استفاده از پلی‌آنیلین و نانوذره نقره به صورت موفقیت آمیز جهت اندازه‌گیری میزان گلوکز خون مورد استفاده قرار گرفت.
- این زیست‌حسگر در محدوده ۶۰ تا ۳۳۰ mg/dl دارای پاسخ خطی قابل قبول می‌باشد.
- خروجی این زیست‌حسگر با نمونه خون‌های واقعی نیز خطی بوده و دارای پاسخ قابل قبول است.
- پاسخ زمانی زیست‌حسگر ساخته شده در مقایسه با روش مدل‌سازی، بسیار کم شده است.
- این زیست‌حسگر در محدوده دمای ۲۰ الی ۴۵ درجه سانتی‌گراد مشخصات خود را حفظ می‌کند و خروجی جریان آن تغییر چندانی نمی‌کند و در این محدوده دمایی قابل استفاده است.

# فصل هشتم: نتایج و پیشنهادات

## ۶-۱ جمع بندی

در دنیای امروز همواره با پیشرفت سریع فناوری در تمامی زمینه‌های مهندسی و غیرمهندسی روبرو هستیم. امروزه در زمینه‌های مختلفی مانند پزشکی، صنایع شیمیایی، صنایع غذایی، محیط زیست و تولید محصولات دارویی و بهداشتی از زیست‌حسگرها بهره می‌گیرند. این حسگرها ابزاری توانمند جهت شناسایی و حس کردن پدیده‌های زیستی می‌باشند. به عنوان مثال حس بویایی انسان نمونه‌ای از یک زیست‌حسگر طبیعی است که به شناسایی می‌پردازد. در حقیقت زیست‌حسگرها ابزارهای هستند که با بهره‌گیری از هوشمندی مواد بیولوژیکی، ترکیب یا ترکیباتی را شناسایی کرده و با آن‌ها واکنش می‌دهند. محصول این واکنش می‌تواند یک پیغام شیمیایی، نوری و یا الکتریکی باشد.

در فصل ابتدایی این پایان نامه مقدمه‌ای بر موضوع و همچنین اهداف آن و سپس سابقه، ضرورت انجام تحقیق و روش پژوهش مورد بحث قرار گرفت. در فصل دوم درمورد مفاهیم کلی معرفی حسگرهای زیستی، حسگرهای الکتروشیمیایی، حسگرهای آنزیمی، نانومواد، پلیمرهای هادی؛ کاربردها و شرایط تجاری کردن آن‌ها بحث می‌شود. در فصل سوم نظریه و روش تشخیص بیماری و درمان با تغییر دینامیک سیستم به صورت کامل تشریح شد. در فصل چهارم مدل‌سازی مسئله و مطالب و روش‌های مورد استفاده، و اثر محدودیت انتشار برای افراد بیمار معرفی شد و نتایج شبیه‌سازی نیز ارائه شد. در فصل پنجم با توجه به توضیحاتی که در فصل دوم به آن‌ها اشاره شد درمورد ساختار کلی، روش ساخت و مواد مورد استفاده‌ای که در تولید یک زیست‌حسگر می‌توان از آن استفاده کرد به صورت کامل توضیح داده شد و با نتایج داده‌های آزمایشگاهی که روی افراد ناقل بیماری حاصل شد، مجدد شبیه‌سازی صورت پذیرفت و نتایج با فصل سوم مقایسه شد.

## ۶-۲ پیشنهادات

- در صورتی که بتوان ابعاد زیست‌حسگر را بسیار کوچک کرد می‌توان از این تکنیک برای ساخت یک زیست‌حسگر گلوکز استفاده کرد که در بدن انسان قابلیت کاشته شدن را داشته باشد.
- با استفاده از الکترودهای طلا می‌توان پاسخ زمانی سیستم را بهبود بخشید.
- با استفاده از یک مدار پردازشگر و تقویت کننده مناسب می‌توان مقادیر بسیار کم گلوکز را اندازه گیری کرد.
- سلول‌های سرطانی دارای متابولیسمی بسیار شبیه به جنین هستند، بنابراین ما حدس می‌زنیم که تومورها، از لحاظ سوخت و ساز به مرحله‌ی جنین برمی‌گردند. این مسیری است که باید در آن به تحقیق بیشتری پرداخت.
- تکرارپذیری آزمایش برای تاثیر دما بر روی نمونه‌ها می‌تواند بررسی شود.

## مراجع

- [1] B.R. "Nonlinear effects of diffusion limitations on the response and sensitivity of amperometric biosensors." *Electrochimica Acta* 240 (2017): 399-407.
- [2] P.N. Bartlett, *Bioelectrochemistry: Fundamentals, Experimental Techniques and Applications*, John Wiley & Sons, Chichester, UK, 2008, ISBN 978-0-470- 8436-4-2
- [3] A.P.F. Turner, I. Karube, G.S. Wilson (Eds.), *Biosensors: Fundamentals and Applications*, Oxford University Press, Oxford, 1990, ISBN 978-0198547457 .
- [5] R.A. Croce, S. Vaddiraju, F. Papadimitrakopoulos, F.C. Jain, Theoretical analysis of the performance of glucose sensors with layer-by-layer assembled outer membranes, *Sensors* 12 (2012) 13402, ISSN 1424-8220.
- [6] O.M. Kirthiga, L. Rajendran, Approximate analytical solution for non-linear reaction diffusion equations in a mono- enzymatic biosensor Involving Michaelis-Menten kinetics, *J. Electroanal. Chem.* 751 (2015) 119.
- [7] T. Schulmeister, Mathematical modelling of the dynamic behaviour of amperometric enzyme electrodes, *Sel. Electrode Rev.* 12 (1990) 203.
- [8] M.R. Romero, A.M. Baruzzi, F. Garay, Mathematical modeling and experimental results of a sandwich-type amperometric biosensor, *Sensors and Actuators B* 162 (2012) 284.
- [9] F. Achi, S. Bourouina-Bacha, M. Bourouina, A. Amine, Mathematical model and numerical simulation of inhibition based biosensor for the detection of Hg(II), *Sens. Actuators B* 207 (2015) 413.
- [10] W.E. Morf, P.D. van der Wal, E. Pretsch, N.F. de Rooij, Theoretical treatment and numerical simulation of potentiometric and amperometric enzyme electrodes and of enzyme reactors. Part 2: Time-dependent concentration profiles, fluxes, and responses, *J. Electroanal. Chem.* 657 (2011) 13.
- [11] D. Britz, J. Strutwolf, Digital simulation of chronoamperometry at a disk electrode under a flat polymer film containing an enzyme, *Electrochim. Acta* 152 (2015) 302.
- [12] P. Jochum, B.R. Kowalski, A coupled two-compartment model for immobilized enzyme electrodes, *Anal. Chim. Acta* 144 (1982) 25.
- [13] K. Saravanakumar, S.P. Ganesan, L. Rajendran, Theoretical analysis of reaction and diffusion processes in a biofuel cell electrode, *Fuel Cells* 15 (2015) 523.
- [14] W.J. Blaedel, T.R. Kissel, R.C. Boguslaski, Kinetic behavior of enzymes immobilized in artificial membranes, *Anal. Chem.* 44 (1972) 2030.
- [15] J. Kulys, The development of new analytical systems based on biocatalysts, *Anal. Lett.* 14 (1981) 377.

- [16] R. Singla, Nagal, Indo Global Journal of Pharmaceutical Sciences, 3 2 (2013) 96-106.
- [17] F. Ahmadi, S. Abolghasemi, N. Parhizgar, F. Moradpour, 6 3 (2013) 209-14.
- [18] PN Bartlett, KFE Pratt (1995) Theoretical treatment of diffusion and kinetics in amperometric immobilized enzyme electrodes Part I: Redox mediator entrapped within the film. *J Electroanal Chem* 397:61
- [19] LK Bieniasz, D Britz (2004) Recent developments in digital simulation of electroanalytical experiments. *Polish J Chem* 78:1195
- [20] WJ Blaedel, TR Kissel, RC Boguslaski (1972) Kinetic behavior of enzymes immobilized in artificial membranes. *Anal Chem* 44:2030
- [21] AJR S´anchez, FS Rojas, CB Ojeda (2007) Recent development in optical fiber biosensors. *Sensors* 7:797
- [22] TC Bruice (2006) Computational approaches: reaction trajectories, structures, and atomic motions. *Enzyme reactions and proficiency. Chem Rev* 106:3119
- [23] A Cambiaso, L Delfino, M Grattarola et al (1996) Modeling and simulation of a diffusion limited glucose biosensor. *Sensor Actuat B-Chem* 33:203
- [24] J Castillo, A Bl'ochl, S Dennison et al (2005) Glutamate detection from nerve cells using a planar electrodes array integrated in a microtiter plate. *Biosens Bioelectron* 20:2116
- [25] A. Talkington, C. Dantoin, and R. Durrett, *Ordinary Differential Equation Models for Adoptive Immunotherapy*, *Bulletin of Mathematical Biology*, vol. 80, pp. 1059-1083, 2017.
- [26] A. Ghaffari, M. Nazari, B. Bahmaie, and B. Ghaffari, How finite duration inputs are able to change the dynamics of a system: Application to finite duration cancer treatment, presented at the 22nd Annual Conference of Mechanical Engineering, Ahvaz, Iran, 2014.
- [27] O. Isaeva and V. Osipov, Different strategies for cancer treatment: mathematical modelling, *Computational and Mathematical Methods in Medicine*, vol. 10, pp. 253-272, 2009.
- [28] De Pillis L. G., Gu W., and Radunskaya A .E., Mixed immunotherapy and chemotherapy of tumors: modeling, applications and biological interpretations, *Journal of theoretical biology*, vol. 238, pp. 841-862, 2006.
- [29] A. Ghaffari and M. Khazaei, Cancer dynamics for identical twin brothers, *Theoretical Biology and Medical Modelling*, vol. 9, p. 4, 2012.
- [30] MF Chaplin, C Bucke (1990) *Enzyme technology*. Cambridge University Press, Cambridge
- [31] LC Chen, KS Tseng, KC Ho (2006) General kinetic model for amperometric sensors based on Prussian blue mediator and its analogs: Application to cysteine detection. *Electroanal* 18:1313
- [32] LC Clarc, C Lyons (1962) Electrode system for continuous monitoring in cardiovascular surgery. *Ann N Y Acad Sci* 102:29
- [33] JRD Corcuera, R Cavalieri, J Powers, J Tang (2004) Amperometric



- enzyme biosensor optimization using mathematical modeling. In: Proceedings of the 2004 ASAE/Csae Annual International Meeting, Paper No. 047030 American Society of Agricultural Engineers, Ottawa
- [34] NJ Forrow, SW Bayliff (2005) A commercial whole blood glucose biosensor with a low sensitivity to hematocrit based on an impregnated porous carbon electrode. *Biosens Bioelectron* 21:3581
- [35] DL Hall, SAH McMullen (2004) *Mathematical techniques in multisensor data fusion*. Artech House Information Warfare Library, 2nd edn. Artech House Inc, Norwood
- [36] PD Hale, HL Lan, LI Boguslavsky et al (1991) Amperometric glucose sensors based on ferrocene-modified poly(ethylene oxide) and glucose oxidase. *Anal Chim Acta* 251:121
- [37] NJ Higham (2002) *Accuracy and stability of numerical algorithms*, 2nd edn. SIAM, Philadelphia
- [38] P Jochum, BR Kowalski (1982) A coupled two-compartment model for immobilized enzyme electrodes. *Anal Chim Acta* 144:25
- [39] H. Bisswanger, *Enzyme Kinetics: Principles and Methods*, 2 edn., WileyBlackwell, Weinheim, Germany, 2008, ISBN 978-3-527-31957-2
- [40] J Kulys, K Kadziauskiene (1978) Bioelectrocatalysis. Lactate-oxidizing electrode. *Doklady Akademii Nauk SSSR* 239:636
- [41] JJ Kulys (1981) Development of new analytical systems based on biocatalysers. *Enzyme Microb Technol* 3:344
- [42] J Kulys (2004) Modeling trienzyme biosensor at internal diffusion limitation. *Anal Model Contr* 9:139
- [43] J Kulys (2005) Kinetics of biocatalytical synergistic reactions. *Nonlinear Anal Model Contr* 10:223
- [44] J Lammertyn, P Verboven, EA Veraverbeke et al (2006) Analysis of fluid flow and reaction kinetics in a flow injection analysis biosensor. *Sensor Actuat B-Chem* 114:728
- [45] K Lemke (1988) Mathematical simulation of an amperometric enzyme-substrate electrode with a pO<sub>2</sub> basic sensor. Part 2. Mathematical simulation of the glucose oxidase glucose electrode. *Med Biol Eng Comput* 26:533
- [46] MEG Lyons, T Bannon, G Hinds, S Rebouillat (1998) Reaction/diffusion with MichaelisMenten kinetics in electroactive polymer films. Part 2. The transient amperometric response. *Analyst* 123:1947
- [47] HR Luckarift (2008) Silica-immobilized enzyme reactors. *J Liq Chromatogr R T* 31:1568
- [48] E Magner (1998) Trends in electrochemical biosensors. *Analyst* 123:1967
- [49] P Malkavaara, R Aln, E Kolehmainen (2000) Chemometrics: an important tool for the modern chemist, an example from wood-processing chemistry. *J Chem Inf Comput Sci* 40:438
- [50] H Martens, T Ns (1989) *Multivariate calibration*. Wiley, Chichester
- [51] W Matuszewski, Trojanowicz M (1988) Graphite paste-based

- enzymatic glucose electrode for flow-injection analysis. *Analyst* 113:735
- [52] L Michaelis, ML Menten (1913) Die Kinetik der Invertinwirkung. *Biochem Z* 49:333
- [53] A Mitchell, D Griffiths (1980) The finite difference methods in partial differential equations. Wiley, New York
- [54] D Pfeiffer, FW Scheller, K Setz, F Schubert (1993) Amperometric enzyme electrodes for lactate and glucose determinations in highly diluted and undiluted media. *Anal Chim Acta* 281:489
- [55] WH Press, BP Flannery, SA Teukolsky, WT Vetterling (1993) Numerical Recipes in C: The Art of Scientific Computing Cambridge University Press, Cambridge
- [56] VJ Razumas, JJ Kulys, AA Malinauskas (1980) Kinetic amperometric determination of hydrolase activity. *Anal Chim Acta* 117:387
- [57] S Rodriguez-Mozaz, MP Marco, MJL de Alda, D Barcelo (2004) Biosensors for environmental applications: Future development trends. *Pure Appl Chem* 76:723
- [58] J Ruzicka, EH Hansen (1988) Flow injection analysis. Wiley, New York
- [59] Samarskii AA (2001) The theory of difference schemes. Marcel Dekker, New York-Basel
- [60] T Vo-Dinh (2003) Biomedical photonics handbook. CRC Press, New York
- [61] F Scheller, F Schubert, D Pfeiffer et al (1989) Research and development of biosensors. A review. *Analyst* 114:653
- [62] JM Smith, E Szathmary (1996) On the likelihood of habitable worlds. *Nature* 384:107
- [63] D. Fink, T. Na, J.S. Schultz, Effectiveness factor calculations for immobilized enzyme catalysts, *Biotechnol. Bioeng.* 15 (1973) 879
- [64] J Wang (2000) Analytical electrochemistry, 2nd edn. Wiley, New-York
- [65] W Zhao, Xu JJ, Chen HY (2006) Electrochemical biosensors based on layer-by-layer assemblies. *Electroanal* 18:1737
- [66] HM Yang (2000) Mathematical model for liquid-liquid phase-transfer catalysis. *Chem Eng Comm* 179:117
- [67] R. Baronas, F. Ivanauskas, J. Kulys, *Mathematical Modeling of Biosensors*, Springer, Dordrecht, 2010, ISBN 978-90-481-3242-3
- [68] R. Baronas, A. Zilinskas, L. Litvinas, Optimal design of amperometric biosensors ~ applying multi-objective optimization and decision visualization, *Electrochim. Acta* 211 (2016) 586
- [69] V. Aseris, R. Baronas, K. Petrauskas, Computational modelling of three-layered ~ biosensor based on chemically modified electrode, *Comp. Appl. Math.* 35 (2016) 405.
- [70] L.A. Segel, M. Slemrod, The quasi-steady-state assumption: a case study in perturbation, *SIAM Rev.* 31 (1989) 446
- [71] J. Wang, Electrochemical Glucose Biosensors. *Chem. Rev.* 2008, 108, 814–825.

# Abstract

Breast cancer is the second leading cause of cancer deaths in women after lung cancer, and is the most common cancer in women after non-metastatic skin cancer. According to World Health Organization (WHO) statistics, more than 1.2 million breast cancer patients are diagnosed each year and more than 500,000 die from the disease. Iran is no exception. As such, cancer accounts for 4.21% of all malignancies and is the most common cancer in Iranian women. As many as 24 out of every 10,000 Iranian women get the disease. Given the current situation, Iranian women develop the disease a decade earlier. Given this, diagnosis and treatment of the disease is important.

One of the most important problems in the treatment of cancer is its timely diagnosis. There are many different methods of detection; biosensors are the best way to measure different biological parameters in the human body. In this study, two systems are examined, in the first system we detect the disease, and by using therapeutic immunity to modify the dynamics of the system and by using chemotherapy to guide the path of the system to the desired equilibrium point. Treatment was performed on three patients aged 8, 22 and 60 years, as the age of the patient was effective in providing treatment. The duration of treatment is shorter than in the young and elderly patient because of the stronger assumption of the immune system in the young and elderly patient, indicating the importance of immunotherapy along with chemotherapy. The next section discusses the relationship between blood glucose level and its effect on cancer treatment. In this way, biosensor modeling is performed using analytical and numerical solution of partial differential equations. The main rationale of this study is to evaluate the critical parameters and conditions that determine the biosensor response. Hence the solution of finite difference method 4 is dedicated to the digital solution of linear diffusion equations that are the basis of biosensor modeling. Then the results of the construction and laboratory data are compared with the modeling method. And we were able to optimize the sensor performance as much as possible by analyzing the parameters affecting the sensor output.

## Key word:

Keywords: Breast cancer, Biosensor, Blood glucose, Minor differential equations, Finite difference method, Distribution equations



Shahrood University of  
Technology

Faculty of Mechanical and Mechatronics Engineering

M.Sc. Thesis in Mechatronics Engineering

**Nonlinear analysis of diffusion limitations on the response and  
sensitivity of amperometric biosensors**

By:

Mahnaz Ghasemi

Supervisor:

Dr. Saeede Ferdowsi

Advisor:

Dr. Mostafa Nazari

Dr. Seyed Mortaza Naqib

Dr. Mohsen Nazari

January 2020